

1967

PROTISTOLOGICA

Tome III

Fascicule 2

EXTRAIT

J. Lénard

ÉDITIONS DU CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Digitized by the Internet Archive
in 2026



https://archive.org/details/IA41546608_0001

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES SARCOSPORIDIES ET DES TOXOPLASMES (*TOXOPLASMEA*)

J. SÉNAUD

Centre de Biologie cellulaire,
Clermont-Ferrand.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	170
MATÉRIEL ET TECHNIQUES	171
I. — <i>Sarcocystis tenella</i>	
II. — Les Toxoplasmes	
III. — Microscopie optique	
IV. — Microscopie électronique	
RECHERCHES ET OBSERVATIONS PERSONNELLES	173
I. — Les kystes de <i>Sarcocystis tenella</i> dans la musculature striée du Mouton	173
A. — Répartition, localisation et forme des kystes	
B. — Action sur l'hôte	
C. — L'évolution intramusculaire de <i>S. tenella</i>	
1. Stades prékystiques	
2. Stades kystiques jeunes	
3. Stades kystiques intermédiaires	
4. Stades kystiques adultes, l'enveloppe du kyste et ses annexes	
D. — Devenir et dégénérescence des kystes	
II. — Aperçu du cycle de développement de <i>Toxoplasma gondii</i>	183
III. — Les éléments cellulaires des <i>Toxoplasmea</i> et leur évolution	184
A. — Les métrocytes et leur évolution	184
1. Chez <i>Sarcocystis tenella</i>	
2. Chez <i>Toxoplasma gondii</i>	

B. — Les endodyocytes des <i>Toxoplasmea</i>	190
1. Observations <i>in vivo</i> des cellules et de leur mouvement	190
a) Mouvement de flexion	
b) Mouvement de balancement	
c) Mouvement de glissement	
2. Ultrastructure des endodyocytes	193
a) La paroi cellulaire	
b) La région apicale	
c) Les rhoptries	
d) Les sarconèmes	
e) Les grains moyens	
f) Les plages APS positives	
g) Le chondriome	
h) Le reticulum endoplasmique	
i) L'appareil de Golgi	
j) Les vacuoles	
k) Le noyau	
3. La division des endodyocytes	206
4. Evolution des endodyocytes des <i>Toxoplasmea</i>	209
IV. — Action d'un extrait de Toxoplasmes (toxoplasmine) sur le développement embryonnaire du Poulet	210
A. — Matériel et technique	210
B. — Résultats des expériences	211
1) Amnios; 2) Anomalies de la circulation; 3) Microcéphalie; 4) Anomalies des yeux; 5) Anomalies des vésicules auditives; 6) Anomalies du système nerveux central; 7) Anomalies des somites; 8) Anomalies de la chorde; 9) Développement inégal et anomalies des bourgeons des membres; 10) Autres malformations.	
C. — Conclusions	213
V. — Résultats préliminaires de l'action d'extrait aqueux de Sarcosporidies sur quelques animaux	214
A. — Préparation de l'extrait brut de Sarcosporidies	
B. — Observations	
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	216

RÉSUMÉ

Nous avons étudié au microscope photonique et électronique deux Protozoaires parasites, de position systématique incertaine : *Sarcocystis tenella* de la musculature striée des Moutons dont 20 % sont parasités et *Toxoplasma gondii*, parasite ubiquiste de la plupart des tissus des Vertébrés.

L'analyse des premiers stades du développement et de leur évolution dans les fibres musculaires striées de l'hôte montre des transformations nettes et caractéristiques de la structure des kystes de *S. tenella*. L'enveloppe, d'abord lisse dans les kystes très jeunes, se charge par la suite de villosités digitiformes qui évoluent,

dans les kystes mûrs, en des replis complexes en forme de crampon. Ces villosités, dont la paroi a une structure alvéolaire et qui sont parcourues de tubules, s'associent, en un ensemble cohérent, avec les myofibrilles de la fibre musculaire parasitée qui est elle-même doublée par le tissu conjonctif. Cette implantation du parasite dans les tissus de l'hôte matérialiserait des échanges importants. L'enveloppe kystique ne peut donc fournir un critère systématique valable, qu'après, au moins, une étude de son évolution dans un même hôte.

La cytologie de *T. gondii* et de *S. tenella* montre des rapports évidents entre ces deux Protistes.

La membrane cellulaire simple, doublée d'un épiphasme, s'invagine en une cupule (micropyle) se prolongeant par des canaux intracytoplasmiques qui passeraient au *reticulum endoplasmique*. Le complexe apical (organe de pénétration) des endodyocytes est constitué d'un conoïde hétérogène, surmonté de deux anneaux et entouré d'un autre anneau d'où partent 22 fibres sous-pelliculaires, tubulaires. Les rhoptries, peu nombreuses chez *Sarcocystis*, convergent, chez *Toxoplasma*, en un faisceau qui traverse le conoïde pour se rendre à l'apex de la cellule. Les sarconèmes, rares chez *Toxoplasma*, disposés régulièrement en quinconce, arrangés en rideaux parallèles et reliés entre eux par des desmosomes, occupent tout le tiers antérieur de la cellule de *Sarcocystis* et constituent, à notre avis, une armature souple de cette région.

Le chondriome est représenté par plusieurs mitochondries (*Toxoplasma*) ou par une seule ramifiée, très longue (*Sarcocystis*) dont les *microvilli* (claviformes, pédiculées et très serrées les unes contre les autres) s'affrontent selon l'axe mitochondrial. L'appareil de Golgi, situé en un point quelconque de la cellule chez *Sarcocystis*, occupe une cupule antérieure du noyau chez *Toxoplasma*. La membrane nucléaire est percée de nombreux pores limités par huit épaississements de la soudure des deux feuilletts. Les inclusions deutoplasmiques sont constituées de globules lipidiques et de grains d'amylopectine.

Chez les Sarcosporidies, des cellules (eumétrocytes) dépourvues de complexe apical, produisent, par scissiparité, des hétérométrocytes qui, par un seul processus d'endodyogénèse, forment chacun deux endodyocytes. Ces derniers donnent alors, par endodyogénèse, de nombreuses générations d'endodyocytes. Les premiers formés dégénèrent dans les loges centrales du kyste.

Chez les Toxoplasmes, les cellules se divisent d'abord par scissiparité multiple, produisant ainsi directement des cellules pourvues d'un complexe apical, qui se multiplient ensuite par endodyogénèse typique.

La caractéristique essentielle de ces Protozoaires est donc la formation, à l'intérieur d'une cellule initiale, de deux cellules-filles identiques (endodyogénèse).

L'extrait de Toxoplasmes (toxoplasmine) a une action tératogène sur l'embryon de Poulet et certaines portions protéiques d'extrait sarcosporidien (sarcocystine) ont, sur le Lapin, les mêmes effets que les broyats entiers de kystes.

En conclusion, d'après les aspects connus de leur cycle de développement (scissiparité, endodyogénèse) et d'après leurs caractères ultrastructuraux, il ne fait aucun doute que *Sarcocystis* et *Toxoplasma* doivent être inclus dans la même classe des *Toxoplasmea* et dans le sous-phylum des *Sporozoa*, puisque de nombreuses identités d'ultrastructures ont été relevées entre Toxoplasmes et Sarcosporidies d'une part, *Eimeria*, *Plasmodium* et *Lankesterella*, d'autre part.

SUMMARY

Two parasitic *Protozoa*, of uncertain systematic position, are studied with light and electron microscopes: *Sarcocystis tenella* of the striated musculature of Sheep, 20 per cent of which being parasitized and *Toxoplasma gondii*, ubiquitous parasite of the most tissues of Vertebrates.

The analysis of the first stages of development and of their evolution into the striated muscular fibres of the host, shows plain characteristic transformations of the structure of *S. tenella* cysts. The envelope, first smooth in the very young cysts, bears then digitiform villousities which transform, in the ripe cysts, into complex folds in the shape of cauliflower. These villousities, the wall of which is alveolate, are crossed by tubules. They associate, into a coherent whole, with the myofibrils of the parasitized muscular fibre which is itself lined with connective tissue. This implantation of parasite in the tissue of the host should materialise important exchanges. Then, the cystic envelope can supply an available systematic proof, only a study of its evolution in the same host.

The cytology of *T. gondii* and *S. tenella* shows relations between these two *Protozoa*.

The simple cellular membrane, lined with epiplasm, forms a cup (micropyle) prolonged by intracytoplasmic canals which probably pass to endoplasmic *reticulum*. The apical complex (penetration organ) of endodyocytes is constituted by an heterogenous conoïd surmounted by two rings, and surrounded by another from which, 22 tubulars, sub-pellicular fibrils start. In *Sarcocystis*, the rhoptries are few in number. In *Toxoplasma*, they converge like a bundle and go, through the conoïd, to the apex of the cell. The sarconemes, scarce in *Toxoplasma*, regularly quinconcial, arranged in parallel ribbons and connected by desmosomes, fill the anterior third of the cell of *Sarcocystis* and constitute, for us, a flexible armature in this region. The chondriome is formed by several mitochondria (*Toxoplasma*) or by a ramified, very long single one (*Sarcocystis*), the *microvilli* of which (claviform, pedicelled, and very closed together), face themselves on the mitochondrial axis. The Golgi apparatus, situated in any point of the cell in *Sarcocystis*, is placed in an anterior cup of the nucleus in *Toxoplasma*. Numerous pores bore the nuclear membrane; they are limited by eight thickenings of the two soldered layers. The deutoplasmic inclusions are lipidic globules and amylopectin grains.

In the *Sarcosporidia*, cells (eumetrocytes), without apical complex, produce, by scissiparity, heterometrocytes

which form two endodyocytes, only by the mean of one process of endodyogeny. These last give, by endodyogeny, numerous generations of endodyocytes, oldest of which degenerate in the central lodges of cysts.

In *Toxoplasma*, the cell divide first by multiple scissiparity, directly producing cells with apical complex then multiply by typical endodyogeny.

The main characteristic of these *Protozoa* is the formation, into an initial cell, of two identical daughter-cells (endodyogeny).

Toxoplasma extract (toxoplasmin) has a teratogenic effect on the Chick embryo. Certain proteic parts of sarcosporidian extracts (sarcocystin) have, on the Rabbit, the same actions like the total emulsions of cysts.

In concluding, according to the well known aspects of their development cycle (scissiparity, endodyogeny) and according to their ultrastructural characters, it is not doubtful that *Sarcocystis* and *Toxoplasma* must be included into the same class of *Toxoplasmea* and into the sub-phylum of *Sporozoa*, because numerous ultrastructural identities are noticed between *Toxoplasma* and *Sarcocystis*, on one hand, *Eimeria*, *Plasmodium* and *Lauckereella*, on the other hand.

INTRODUCTION

Peu de Protozoaires sont aussi répandus dans la nature que les *Toxoplasmea* et, pourtant, peu sont aussi mal connus. Les seuls stades de leur cycle, qui ont été observés, endoparasites de Vertébrés (Reptiles, Oiseaux, Mammifères y compris l'homme) se développent dans les tissus des hôtes variés qui les hébergent, soit sous forme de kystes ou de pseudokystes, soit sous forme d'éléments cellulaires indépendants. Dans ce cas, ils sont soit libres dans le milieu intérieur et dans différentes humeurs, soit intracellulaires dans les cellules pulmonaires, nerveuses, hépatiques, spléniques pour le genre *Toxoplasma*, dans les cellules musculaires striées seules pour le genre *Sarcocystis*.

Les imprécisions qui concernent les *Toxoplasmea* ne tiennent pas à un manque d'intérêt de la part des chercheurs. Depuis leur découverte en effet (il y a plus de cent ans pour le genre *Sarcocystis*) bon nombre de biologistes, vétérinaires ou médecins éminents se sont intéressés à eux : les noms de MIESCHER, HERBST, RAINEY, ALEXÉIEFF, BALBIANI, CHATTON, LAVÉRAN, MESNIL, PERRIER pour les Sarcosporidies, ceux de JANKU, TORRÈS, SPLENDORE, NICOLLE, MANCEAUX, LAVERAN pour les Toxoplasmes, peuvent être évoqués.

Les Sarcosporidioses animales ou humaines, depuis longtemps observées, ont de tous temps dérouté les chercheurs du fait de la difficulté d'expérimentation liée jusqu'alors, à l'impossibilité de maintenir ces organismes en culture au laboratoire. Dans le cas des toxoplasmoses, l'agent pathogène peut, au contraire, être entretenu par passages successifs sur Souris ou sur

culture de tissus. Cet avantage a permis d'obtenir d'importants résultats du point de vue essentiellement médical, surtout en gynécologie et en médecine infantile.

Les études morphologiques en microscopie optique sont longtemps restées stagnantes après les premières observations des auteurs anciens. La microscopie électronique a en partie élucidé l'ultrastructure des *Toxoplasmea*, ouvrant ainsi la voie à des considérations nouvelles d'ordre biologique et systématique. En effet, le retard pris dans la description de ces Protistes était dû aussi à leur très petite taille qui a souvent conduit à des interprétations erronées de certaines de leurs structures : par exemple, LAVÉRAN et MESNIL (1899a) avaient cru devoir rapprocher systématiquement Sarcosporidies et Cnidosporidies en se basant sur l'existence d'une capsule polaire antérieure dans la spore de *Sarcocystis tenella*.

Parallèlement, la microscopie électronique a révélé des structures similaires entre divers Coccidiomorphes et les *Toxoplasmea*. Cette analogie a été interprétée tantôt comme un phénomène de convergence, tantôt comme l'indice d'une liaison phylétique entre ces deux groupes. En outre, si l'ultrastructure des Toxoplasmes a fait l'objet de plusieurs études, celle de *Sarcocystis* ne fut abordée que par LUDVIK (1956, 1958, 1959, 1960, 1963a). Il nous a donc paru intéressant d'approfondir l'ultrastructure des Sarcosporidies en comparaison avec celle des Toxoplasmes, d'aborder l'étude des substances toxiques (toxoplasmine et sarcocystine) liées à ces organismes, et de réunir ces données en un travail d'ensemble, permettant d'établir la position systématique de ces Protistes.

MATERIEL ET TECHNIQUES

Nos recherches ont porté essentiellement sur la Sarcosporidie du Mouton (*Sarcocystis tenella* RAILLIET) parasite du tissu musculaire strié et sur *Toxoplasma gondii* (NICOLLE et MANCEAUX) parasite ubiquiste de la plupart des Vertébrés où on peut le trouver dans la majorité des tissus.

I. — *Sarcocystis tenella*.

On trouve ces parasites localisés en grande abondance sous forme de kystes de 0,5 à 10 mm de diamètre dans la musculature œsophagienne des Moutons, ainsi que dans tous les muscles squelettiques et même dans le muscle cardiaque où ils sont cependant beaucoup plus sporadiques. Les œsophages des Moutons proviennent des abattoirs de La Mouche à Lyon, de la Villette à Paris, de Moulins-sur-Allier et de Clermont-Ferrand.

Sur les 8 000 œsophages que nous avons examinés, 5 500 provenant de jeunes agneaux de bonne qualité n'ont présenté aucune lésion macroscopique de sarcosporidiose évidente. Sur les 2 500 animaux restants, adultes, constitués essentiellement de bêtes âgées (béliers ou brebis de réforme), seulement 200 environ étaient parasités. Le pourcentage du parasitisme (8 % de l'ensemble des animaux âgés, 3,6 % de la totalité des animaux que nous avons eus en mains), s'il est en concordance avec les observations de JANIN (1907), diffère des chiffres annoncés par MOULÉ (in RAILLIET 1895), ALEXÉIEFF (1913) et GRASSÉ (1953) selon lesquels 70 % à 99 % des Moutons sont parasités par *S. tenella*. Nous devons cependant remarquer que ces auteurs ne signalent pas s'il s'agit d'observations macroscopiques ou microscopiques. Il faut, en outre, reconnaître que l'examen de la musculature de la carcasse et de l'œsophage des animaux doit être fait assez rapidement aux abattoirs : les kystes très petits ou microscopiques passent ainsi inaperçus. Pour pallier à ce défaut, nous avons essayé, mais sans succès, la technique de CÉSARI (1921) consistant à saupoudrer de sel les œsophages ne pré-

sentant pas de kystes macroscopiques et à examiner la sérosité qui en résulte. Les seuls moyens pratiques et valables qui seraient susceptibles de renseigner sur la fréquence réelle de la sarcosporidiose chez le Mouton sont les tests sérologiques difficilement applicables dans le cadre de nos moyens. D'autre part, l'expression du pourcentage des animaux parasités n'a de signification réelle que si sont connus l'âge des animaux, leur provenance géographique, les conditions de leur élevage, autant de données impossibles à recueillir dans les abattoirs. Dans l'ensemble, en considérant les chiffres variables selon les animaux, obtenus par KALLAB (1966) chez les Bovins (10,98 %) et chez les Porcs (67 %), un pourcentage de 20 % des Moutons âgés, étudiés par nous dans les différents abattoirs, paraît être un maximum.

Les œsophages prélevés à l'échaudoir sont maintenus à 35° environ à l'aide de bouteilles isothermes jusqu'au moment des fixations ultérieures. En outre, il faut éviter le pullulement des bactéries qui souillent toujours plus ou moins le matériel tel qu'il peut être obtenu au moment de l'abattage. Nous avons d'ailleurs supposé que certaines bactéries pouvaient se développer normalement à l'intérieur du kyste; or, des observations effectuées au moment du prélèvement même, et une mise en milieu de culture bactérien, de contenu kystique ponctionné aseptiquement, ont démontré qu'il n'en est rien. Les bactéries proviennent des souillures inévitables des œsophages, par le contenu de panse.

Les kystes de la musculature œsophagienne sont extraits par simple énucléation.

II. — Les Toxoplasmes.

Les Toxoplasmes proviennent du Laboratoire de Protozoologie de l'Académie des Sciences Tchécoslovaque, dirigé par le Professeur JIROVEC (1).

Bien que ces parasites puissent être maintenus, soit sur membrane chorio-allantoïdienne

(1) Nous tenons à remercier ici, M. le Professeur JIROVEC pour l'accueil chaleureux qu'il nous a réservé dans son laboratoire.

d'œuf de Poule (WARREN et RUSS, 1948), soit sur culture de tissus cancéreux (LUND et ses collaborateurs, 1963, LYCKE et LUND, 1964) ou embryonnaires (GUIMARAES et MEYER, 1942), soit encore sur milieu de sérum agar (PULVERTAFT et ses collaborateurs, 1954), nous avons préféré les entretenir par passages successifs sur la Souris, à l'aide d'injections intrapéritonéales, selon la technique pratique, employée dans le laboratoire tchécoslovaque.

Les Souris infectées sont tuées à l'éther ou au chloroforme. La face ventrale est stérilisée à la flamme. Le cuir est incisé de manière à dégager la paroi musculaire sans la léser. L'extension de l'animal fait alors refluer le liquide d'ascite qui se concentre dans les régions situées au-dessous du diaphragme. A l'aide d'une aiguille à biseau court de 8/10 de diamètre, on ponctionne l'exsudat dans les deux angles latéraux de la région sous-diaphragmatique en évitant d'aspirer du sang en provenance de la rate ou du foie que l'on peut léser. On obtient ainsi, 3 à 4 jours après l'injection, 0,2 à 1 ml. d'exsudat péritonéal par Souris. Il peut être conservé quelques heures.

Pour infecter des Souris « neuves », on injecte, directement à travers la paroi abdominale des animaux non anesthésiés, du liquide d'ascite soit en faible quantité, soit dilué dans du sérum physiologique. Une administration d'antibiotiques (streptomycine, pénicilline) peut être pratiquée simultanément pour éviter les infections bactériennes. Ces repiquages doivent être faits tous les 5 à 6 jours environ, car, au bout de ce court laps de temps les animaux meurent d'une toxoplasmose aiguë. Les inoculations sont faites avec beaucoup de précautions. Le local où s'effectuent les manipulations ne sert qu'à cet usage. Les cadavres des animaux infectés sont aussitôt détruits. Les yeux de l'opérateur sont protégés par des lunettes et la bouche est masquée de manière d'éviter toute projection de matériel virulent sur les muqueuses buccale, nasale et oculaire. Les morsures des animaux parasités peuvent également inoculer les Toxoplasmes.

Lorsqu'on effectue une série de fixations, 20 souris sont nécessaires pour obtenir 0,2 gr. de Toxoplasmes centrifugés permettant de réaliser 15 à 20 microinclusions (100 souris fournissant

environ 1 gr. de Toxoplasmes. JIRA, BOZDECH et HEYBERGER, 1963).

III. — Microscopie optique.

Les observations vitales à de forts grossissements, réalisées dans du filtrat de contenu de panse ou dans du sérum sanguin ne portent vraiment que sur les Sarcosporidies dont la taille (10 à 15 μ) est le double environ de celle de *Toxoplasma*. Effectuées en lumière naturelle ou en contraste de phase, elles mettent en évidence la forme exacte des parasites et différents constituants cellulaires. Les mouvements des « spores » de *S. tenella* sont analysés avec précision au moyen de la platine chauffante automatique Zeiss : le kyste dilacéré sur lame dans le sérum de mouton, est recouvert d'une lamelle lutée à la vaseline pour empêcher l'évaporation. La température est alors maintenue à 37° environ.

La plupart des examens sont faits sur des préparations de tissus fixés et colorés selon diverses techniques histologiques et cytologiques classiques. Les meilleurs fixateurs se sont révélés être le liquide de BOUIN-ALLEN et celui de REGAUD avec ou sans postchromisation. En outre, le formol à 2 %, 4 %, 10 % neutralisé ou non et l'alcool 80° ont été employés pour certaines recherches histochimiques. Les frottis mettent en évidence certaines différenciations de la membrane cellulaire de la « spore » et de l'enveloppe kystique de *Sarcocystis* (argyrome, micropyle, mucron apical de la cellule, villosités de la paroi du kyste).

Parmi les colorations habituelles, les hématoxylines ferriques de REGAUD ou ferrochromique de HÉROVICI (1960) associées ou non à l'éosine ou au vert lumière, ainsi que le glychémalun de MAYER permettent de bonnes observations topographiques générales. Le picropolychrome de HÉROVICI (1960), les colorations trichromiques de MASSON, de PRENANT, de GABE et MARTOJA, précisent la morphologie de l'enveloppe kystique de *Sarcocystis*. Le bleu polychrome de UNNA, d'un précieux secours pour la vérification des structures nucléaires, donne cependant des images peu contrastées.

Les tests histochimiques, tels que la réaction

par l'A.P.S. (periodic acid schiff), la méthode de BAUER, et celle par le bleu alcian de VIALLI (LISON, 1960) et celle par le bleu de toluidine sont pratiqués pour l'étude des polysaccharides. Les colorations par le noir cérol B, le sulfate de bleu de Nil et la réaction 02-Schiff (LISON, 1960) pour les lipides, le bleu de bromophénol mercurique associé aux vapeurs ammoniacales et le vert rapide (fast-green) pour les protéines, le test de GOMORI au nitrate de cobalt (LISON, 1960) pour la mise en évidence de la phosphatase alcaline, sont utilisés.

Les imprégnations au nitrate d'argent selon la méthode de CHATTON précisent les structures argyrophiles de surface des cellules. La méthode de BODIAN au protargol (1937a et b) après fixation aux vapeurs de formol ou au tétr oxyde d'osmium et frottis à la gélose révèle le micro-pyle.

IV. — Microscopie électronique.

Les fixations sont faites par l'acide osmique à 1 ou 2 % tamponné selon PALADE, ou par la glutaraldéhyde tamponnée suivie d'une post-fixation osmiée. Les temps de fixation sont variables selon la grosseur des pièces. Pour les Toxoplasmes, 15 à 20 minutes sont suffisantes, tandis que pour certains kystes de *Sarcosporidie*, plus d'une heure est parfois nécessaire.

L'exsudat péritonéal de Souris infectées est fixé, lavé et centrifugé puis inclus en petites pyramides dans la gélose.

Les inclusions à l'épon 812, selon la technique de LUFT (1961) se sont avérées être beaucoup plus satisfaisantes que celles aux méthacrylates employés au début de nos recherches. Les coupes faites au moyen de l'ultramicrotome SORVALL, PORTER, BLUM à couteau de verre, recueillies sur des grilles recouvertes ou non d'une membrane au collodion ou au formvar, sont contrastées par l'acétate d'uranyle, puis par l'acétate de plomb selon MILLONIG (1961). Les préparations sont examinées au microscope RCA EMU 3B du Centre de Microscopie Electronique Appliquée à la Biologie du C.N.R.S. et au microscope Siemens Elmiskop I du Centre de Biologie cellulaire de la Faculté des Sciences de Clermont-Ferrand.

RECHERCHES ET OBSERVATIONS PERSONNELLES

I. — Les kystes de *Sarcocystis tenella* dans la musculature striée du Mouton

A. Répartition, localisation et forme des kystes.

Les œsophages des Moutons parasités sont parsemés de petits corpuscules plus ou moins régulièrement globuleux dont le contenu lactopurulent ne peut être confondu avec les amas de graisse épars sur la musculature.

La répartition des kystes ne semble pas y obéir à une loi précise. Cependant, sur les œsophages moyennement parasités (20 à 30 kystes au total), la majorité des corpuscules occupe la zone la plus proche de la panse. A ce niveau, la musculature est infiltrée de kystes qui la font paraître très pâle. On peut également noter une grande abondance de nodules dans la région post-buccale. Cette constatation nous amènerait à penser que l'infestation de la musculature œsophagienne débute à ces deux niveaux. Lorsque l'œsophage est très parasité, on ne peut plus mettre en évidence une telle répartition des nodules kystiques. Les muscles du diaphragme, les muscles intercostaux sont alors atteints comme si l'infection s'irradiait à partir de la base de l'œsophage. Le parasite semble s'installer d'abord dans la musculature œsophagienne et gagner par la suite les régions les plus proches, en l'occurrence le diaphragme. Le même processus se produit également à l'autre extrémité de l'œsophage où les parasites s'installent dans la musculature de la glotte et de la langue.

La localisation des kystes peut prêter à confusion. RAILLIET (1895) distinguait une psorospermose musculaire d'une psorospermose conjonctive, différenciant par là, les petits kystes enfouis dans la musculature, des gros kystes faisant le plus souvent hernie à l'extérieur de la musculature proprement dite. En réalité, nous montrons qu'il y a seulement un rejet du kyste toujours muni de ses enveloppes, à l'extérieur de l'ensemble musculaire œsophagien qui ne peut plus le contenir. Le nodule (kyste et fibre musculaire) semble alors se trouver dans

le tissu conjonctif. Nous insistons sur le fait que jamais nous n'avons constaté de rejet de kyste du côté de la lumière œsophagienne : aucun nodule n'apparaît dans la sous-muqueuse conjonctive de cet organe.

Dans la musculature du diaphragme où d'importants faisceaux musculaires sont orientés et se contractent dans une direction préférentielle, les kystes se présentent, tout au long de leur développement, sous forme de longs fuseaux de 10 à 15 mm de long sur 3 à 5 mm de diamètre toujours allongés dans le sens des fibres. Par contre, dans la musculature de l'œsophage, le très jeune kyste s'allonge au début, dans le sens de la fibre qui l'héberge. Au fur et à mesure qu'il grossit, de plus en plus gêné par les pressions diverses et simultanées des fibres voisines longitudinales, transversales et obliques, il est obligé de s'arrondir et finit par être globuleux en fin d'évolution quand il est également rejeté hors de la tunique musculaire. Le rapport de la longueur sur le plus grand diamètre illustre ces données. Dans la musculature œsophagienne il ne dépasse jamais 1 dans les cas des kystes très âgés, tandis que dans la musculature du diaphragme il se stabilise autour de la valeur de 2,4 à 2,6. Dans les cas particuliers où le kyste diaphragmatique a pris naissance dans une fibre assez profonde et a échappé à la dégénérescence, la valeur du rapport peut atteindre 5.

B. Action sur l'hôte :

La plupart des vétérinaires admettent que les Sarcosporidies ne déterminent pas, à proprement parler, de maladie chez les animaux atteints. Cependant, certains auteurs ont noté une irritation locale avec formation d'un œdème plus ou moins important dans la région où siègent les nodules. DAMMANN (1867), signale la mort d'une brebis causée apparemment par un œdème de la glotte consécutif à l'irritation et à l'inflammation du pharynx, elles-mêmes dues à la présence de nombreux kystes dans cette région.

En réalité, si les animaux atteints semblent, pour la plupart, ne souffrir d'aucun trouble évident lorsque l'infestation est très modeste, les Sarcosporidies peuvent être tenues pour res-

ponsables d'états cachectiques chez les animaux très fortement parasités. Dans ces cas, l'œsophage est absolument infiltré de kystes intacts, ou traumatisés et partiellement purulents. La musculature atrophiée est blême, flasque, exsangue. La lumière œsophagienne est ulcérée et rétrécie parfois à son débouché dans la panse. Dans les cas extrêmes, la musculature est totalement atrophiée et dégénère partiellement. Lorsqu'ils avalent, les animaux éprouvent des difficultés causées par l'irritation mécanique due aux très nombreux nodules kystiques. Ils se nourrissent mal et deviennent cachectiques. Chez ces Moutons, on remarque d'ailleurs, très souvent une sorte d'atrophie de la panse elle-même qui est recroquevillée.

Si la sarcosporidiose ne peut être tenue pour une maladie au sens strict du terme, on ne peut cependant pas considérer cette parasitose comme dénuée d'un effet nocif sur l'animal atteint.

C. L'évolution intramusculaire de *S. tenella*.

1. Stades prékystiques.

L'échec que nous avons connu dans nos tentatives d'infestation par voie digestive, de la Souris à l'aide de kystes entiers ou de broyats de kystes de *S. tenella* du Mouton, ne nous a pas permis d'élucider le problème de l'existence des stades prémusculaires de ces parasites. L'étude porte donc essentiellement sur les différents stades de l'évolution du parasite dans les

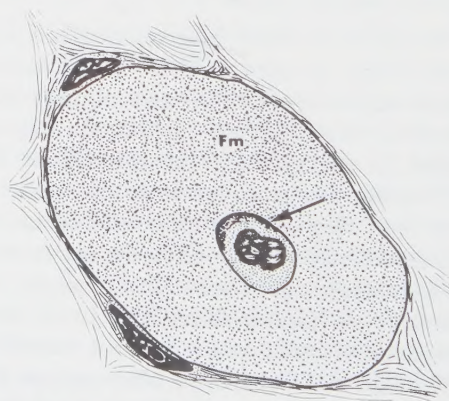


FIG. 1. — Coupe transversale d'une fibre musculaire œsophagienne (Fm) de Mouton, parasitée par une cellule (flèche) en division de *Sarcocystis tenella*. $\times 2000$.

fibres musculaires. Certaines images observées au microscope photonique sur des coupes sériées de muscles fortement parasités semblent caractéristiques des premiers stades de l'infection musculaire.

Dans un cas (fig. 1), il s'agit d'une cellule à noyau légèrement en forme d'haltère, massif, très colorable par l'hématoxyline, entouré d'une zone de cytoplasme bien définie, claire, limitée par une membrane nette, réfringente et continue. L'ensemble est inclus de toutes parts dans la masse des myofibrilles très légèrement distendues.



FIG. 2. — Coupe transversale d'une fibre musculaire œsophagienne (Fm) de Mouton, parasitée par une cellule (flèche) de *Sarcocystis tenella* contenant deux noyaux. $\times 2000$

Dans un autre cas (fig. 2), deux noyaux, occupent le centre d'une cellule analogue à la précédente. De telles images méritent d'être signalées car la plupart des auteurs décrivent les premiers stades intramusculaires sarcosporidiens d'après les seules observations chez la Souris d'ERDMANN (1910b), qui n'avaient pas été revues jusqu'alors et selon lesquelles le kyste dérive d'une cellule initiale unique. Bien que nous n'ayons pas pu mettre en évidence tous les termes du passage progressif de ce sta-

de unicellulaire aux différents stades pluricellulaires kystiques, nous pensons qu'effectivement le premier stade intramusculaire est représenté par une seule cellule produisant, par divisions successives, les premiers cytomères, et dont il faudrait supposer que la membrane subsistera comme strate interne de l'enveloppe kystique adulte.

*

2. Stades kystiques jeunes.

Les observations relatives aux stades kystiques des Sarcosporidies sont très variables. LAVERAN et MESNIL (1899a) discernent la présence de minces filaments surmontant la paroi du kyste de *S. tenella*. Pour VUILLEMIN (1902), chez *S. tenella* et WEBER (1909a, b) chez *S. platydactyli*, un arrangement de bâtonnets accolés ou de structures prismatiques simule un revêtement ciliaire qui est interprété par CRAWLEY (1914b) comme une striation de l'enveloppe dense chez *S. leporum*. En 1923, CHATTON et

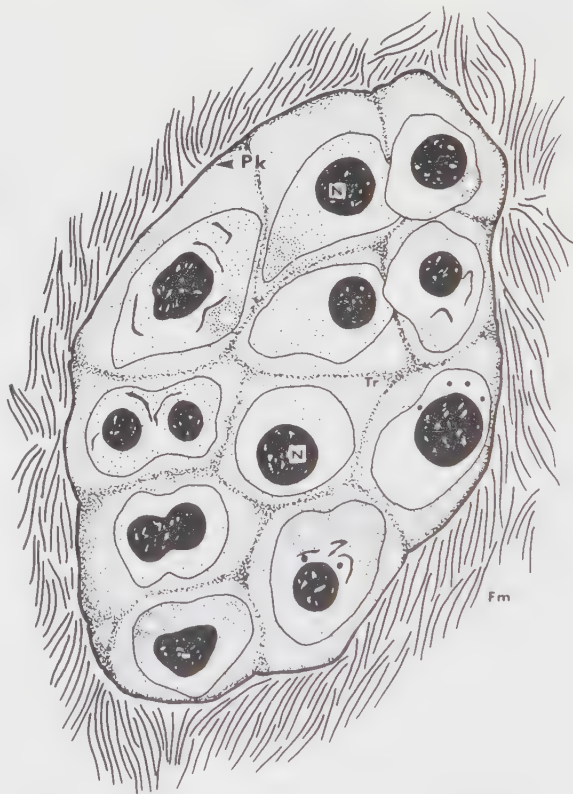


FIG. 3. — Stade kystique jeune de *Sarcocystis tenella*. Certaines cellules sont en division. Fm : fibre musculaire parasitée; N : noyau; Pk : enveloppe kystique simple; Tr : travées. $\times 4000$.

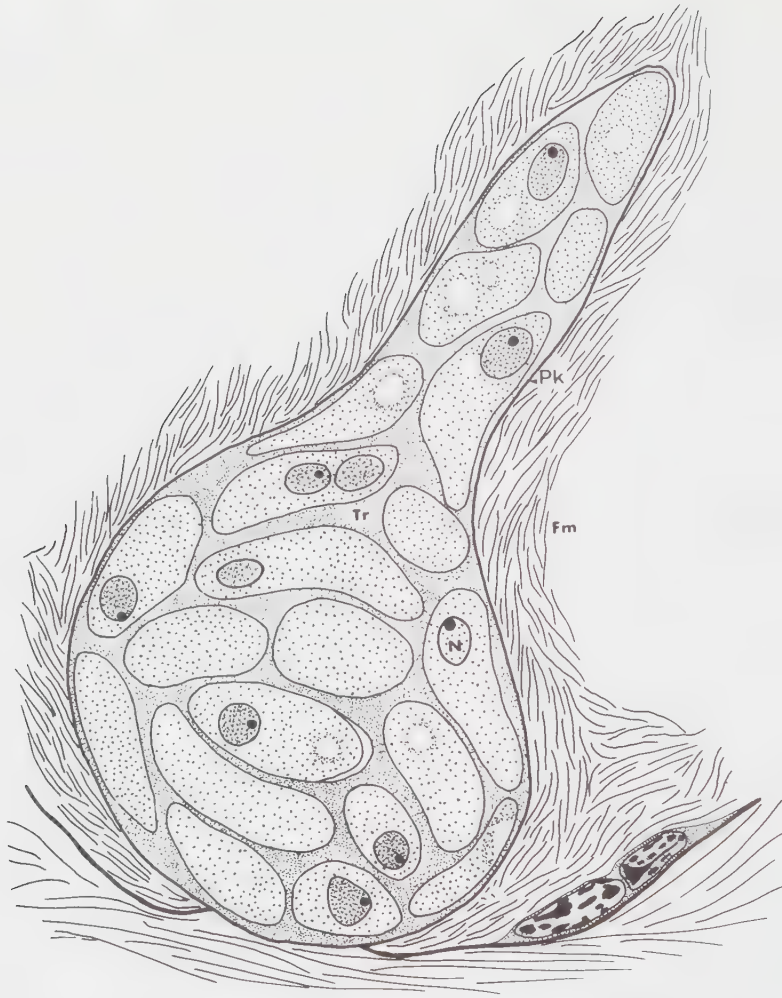


FIG. 4. — Stade kystique jeune de *Sarcocystis tenella*. Certaines cellules sont de contours plus réguliers.
Fm : fibre musculaire parasitée; N : noyau; Pk : enveloppe kystique simple; Tr : travées. $\times 4000$.

AVEL décrivent également des structures ou cytophanères qui recouvrent toute la surface des kystes de la Sarcosporidie du Gecko. FÉRET (1903), JANIN (1907) pensent que l'enveloppe d'abord lisse, se charge par la suite de cils. Bien que signalant chez *S. tenella* une couche moyenne formée de filaments entremêlés, ALEXÉIEFF (1913) ne fait état d'aucune différenciation de la strate interne.

En fait, au cours du développement de *S. tenella*, l'enveloppe kystique subit une évolution caractéristique. Nous envisageons trois stades distincts ayant chacun des caractéristiques, et

nous retenons une complication de plus en plus importante de l'enveloppe au fur et à mesure du développement du kyste (SÉNAUD, 1963a).

Le kyste est d'abord constitué de cellules toutes identiques globuleuses, ou polygonales par tassement réciproque, groupées en une masse régulière entourée d'une membrane très colorable à l'hématoxyline, de $0,3 \mu$ d'épaisseur environ (fig. 3). Les plus jeunes stades que nous ayons ainsi observés mesurent 20 à 50μ de long sur 10 à 15μ de large. Les cellules sont enfermées dans une trentaine de loges de 7 à 10μ de diamètre, délimitées par des travées

issues de la membrane kystique proprement dite et arrangées en un réseau lâche très chromatique et apparemment de même nature. Ces cellules ne représentent que la catégorie de celles qui tapisseront la périphérie des kystes mûrs : les cellules-mères (ou cytomères, GRASÉ, 1953).

Certains de ces kystes ne sont pas régulièrement globuleux mais présentent à une extrémité une sorte de prolongement plus ou moins effilé en forme de diverticule, ce qui pourrait laisser supposer une certaine motilité du kyste à l'intérieur de la fibre (fig. 4).

3. Stades kystiques intermédiaires.

Le nodule s'accroît, les cellules se multiplient et deviennent plus nombreuses. En conséquence, les besoins nutritifs des parasites prennent nécessairement de l'importance, ce qui va de pair avec les modifications subies par l'enveloppe qui augmente sa surface d'absorption avec les tissus environnants de l'hôte.

Les kystes sont alors plus gros, mesurant de 30 à 70 μ de diamètre sur 120 à 300 μ de long. Ils sont fusiformes et allongés dans le sens des myofibrilles. Leur paroi est constituée d'une membrane externe sus-jacente à une zone plus claire, anucléée d'où part l'ensemble des travées délimitant les loges. Cette membrane est plissée en de nombreuses villosités digitiformes, simples, non ramifiées de 2 à 5 μ de longueur sur 0,25 à 0,50 μ de diamètre (fig. 5). Ni anastomosées, ni jointives, dressées normalement à l'enveloppe, elles donnent souvent un aspect strié à cette zone (Pl. I, fig. 1). Sur les coupes transversales ou tangentielles (Pl. I, fig. 2), on peut constater leur disposition régulière en quinconce. Leur section est circulaire. Leur extrémité distale, plus dense paraît parfois légèrement évasée en forme de petit entonnoir directement appliqué contre les myofibrilles nullement modifiées. La fibre augmente cependant régulièrement de volume ; sa colorabilité par différentes substances (éosine, vert lumière) ne présente aucune différence avec celle des autres fibres. Autour de la fibre parasitée, on ne constate pas de réaction de défense ; accroissement du conjonctif, inflammation, infiltration leucocytaire ne sont jamais relevés à ce stade du développement. L'intérieur du kyste est occupé



FIG. 5. — Stade kystique intermédiaire de *Sarcocystis tenella*. Coupe partiellement tangentielle à la paroi. Noter les villosités digitiformes (V) disposées régulièrement en quinconce (flèche).

Ce : cellules du parasite; My : myofibrilles; Tr : travées délimitant les loges. $\times 2500$.

apparemment par deux sortes d'éléments cellulaires : d'une part, contre l'enveloppe, très difficiles à voir, disposées sur un ou deux rangs dans la partie moyenne, plus nombreuses aux deux extrémités du fuseau kystique, des cellules tassées les unes contre les autres occupent tout le volume des loges ; d'autre part, dans les loges centrales, des cellules ovoïdes n'ont pas encore la morphologie des cellules « en banane » des kystes mûrs. Ces structures de l'enveloppe kystique semblent être constantes, chez les Sarcosporidies. Nous avons observé (SÉNAUD et de PUYTORAC, 1964) des cytophanères analogues de 2,5 à 3 μ de long, non ramifiés, dans les kystes de *S. lacertae* du Lézard des murailles (fig. 6 et Pl. I, fig. 4). Ces digitations peuvent y prendre un aspect différent selon les régions du kyste : tantôt elles sont d'un égal diamètre d'une extrémité à l'autre (0,2 μ environ), tantôt elles sont pédiculées à la base et élargies en

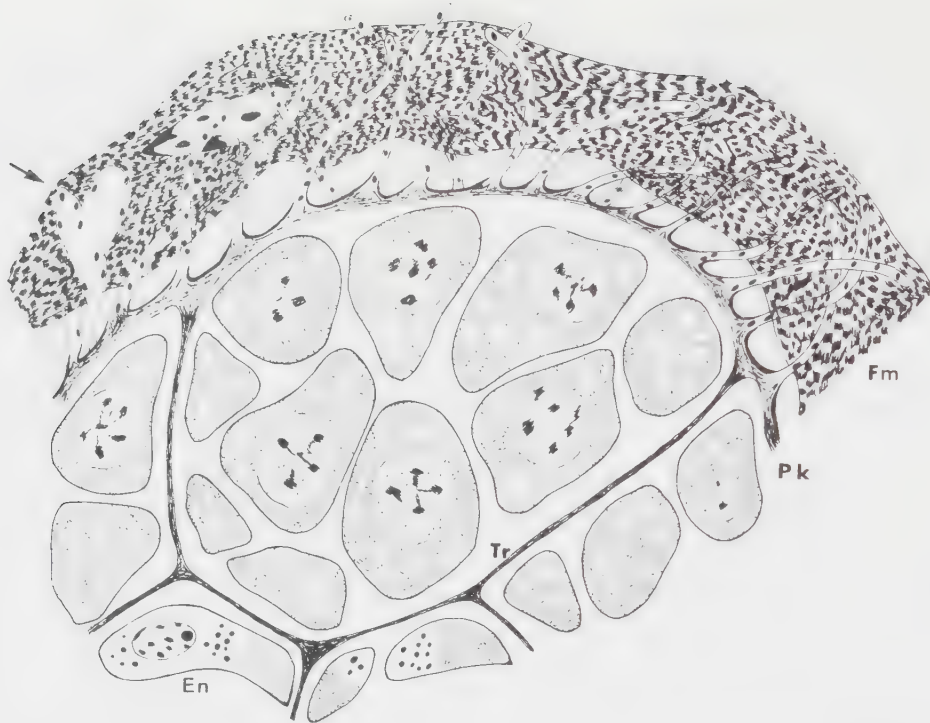


FIG. 6. — *Sarcocystis lacertae* de la musculature squelettique de *Lacerta muralis*. Les villosités digitiformes ou renflées en massue (flèche) s'insinuent entre les myofibrilles de la fibre parasitée (Fm). En : endodyocytes; Pk : paroi kystique; Tr : travées. $\times 7000$.

forme de massue à leur extrémité. Elles peuvent atteindre alors $0,5\mu$ de diamètre (Pl. I, fig. 5).

Elles évoquent ainsi, mais à une échelle moins importante les cytophanères spectaculaires de la Sarcosporidie du Gecko (Pl. I, fig. 3) décrit par CHATTON et AVEL (1923). On relève également dans la substance constitutive de ces digitations des granules plus ou moins nombreux, très chromatiques (fig. 6). La paroi du kyste est constituée, entre la limitante externe et la lumière des loges, d'un matériau apparemment amorphe mais qui se résoud en une structure peut-être fibrillaire à la base des villosités. Nous n'avons jamais pu y découvrir de noyau. La substance musculaire n'est pas modifiée mais, par contre, il semble qu'il y a une multiplication des noyaux des tissus environnants de l'hôte.

De telles villosités absorbantes sont classiques dans le cas de beaucoup d'autres organismes : *Globidium leukarti* (Pl. I, fig. 6), Coccidie de

la panse de certains Ruminants (CHATTON, 1910, 1938a); *Sphaeromyxa sabrazesi*, Myxosporidie (GRASSÉ, 1960); *Mrazekia lumbriculi*, Microsporidie (de PUYTORAC, 1962), *Myxidium lieberkühni*, *Zschokkella nova*, *Chloromyxum cristatum*, Myxosporidies (LOM et de PUYTORAC, 1965). Cependant, selon les cas, il s'agit de modifications de la membrane soit de la cellule-hôte parasitée (*Globidium*, *Mrazekia*) soit de modifications du parasite lui-même (Myxosporidies, Sarcosporidies).

Au troisième stade l'augmentation énorme du nombre des cellules dans le kyste entraîne des besoins nutritifs accrus. La structure de l'enveloppe kystique se complique en même temps que se renforce l'intimité de l'association avec la cellule musculaire.

4. Stades kystiques adultes : l'enveloppe du kyste et ses annexes.

Ces kystes visibles à l'œil nu mesurent de 300μ à 10 millimètres de diamètre. Au micros-

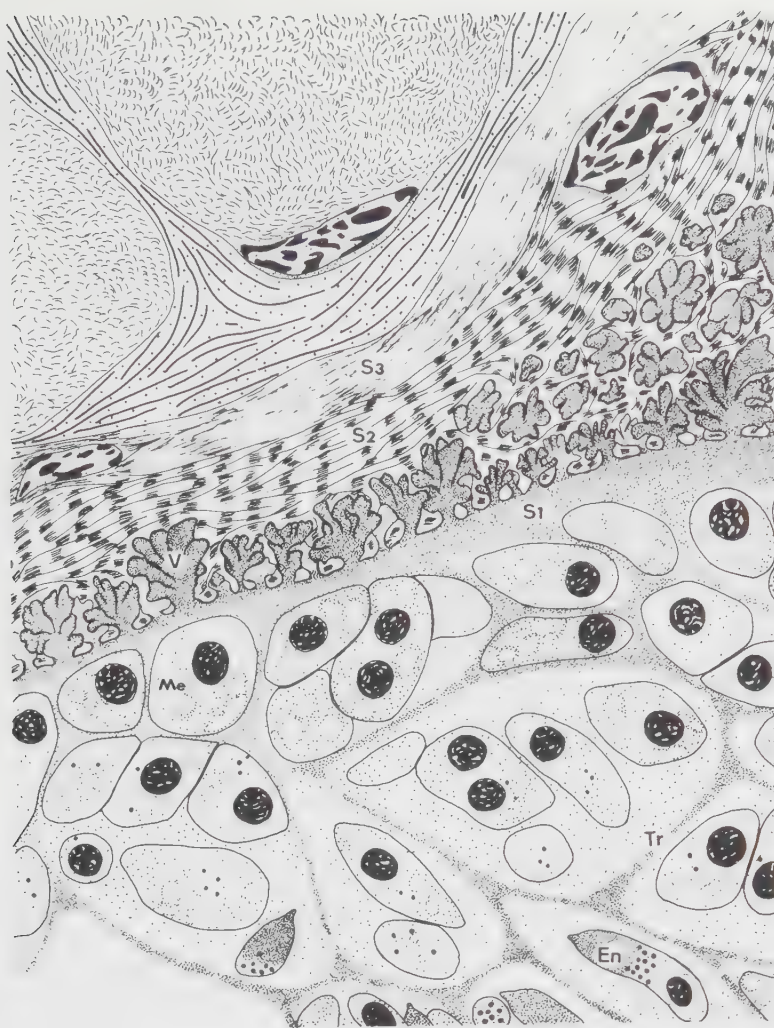


FIG. 7. — Représentation schématique de la zone corticale d'un kyste mûr de *Sarcocystis tenella*, vue au microscope photonique.
En : endodyocyte; Me : métrocyte; S1 : strate interne; S2 : strate musculaire; S3 : strate conjonctive; Tr : travées; V : villosités. $\times 2500$.

cope optique (fig. 7) leur paroi apparaît constituée d'une couche interne, homogène, colorable par le jaune de métanile et par la fuch sine de MASSON et plus ou moins par l'hé-matoxyline. Elle se prolonge vers l'intérieur du kyste en travées de même nature délimitant des loges qui contiennent les différents éléments cellulaires (Pl. I, fig. 7). A la périphérie (Pl. II, fig. 11), les cellules globuleuses serrées les unes contre les autres donneront naissance, par des processus évolutifs décrits plus loin, à d'autres cellules de contours plus réguliers qui produi-

ront elles-mêmes, en direction centripète, les « spores » en forme caractéristique de banane, des auteurs anciens (Pl. II, fig. 14). Ces dernières remplissent tout le contenu des loges de la région périphérique du kyste. Elles sont de plus en plus rares vers l'intérieur du nodule au point que les loges centrales sont entièrement vides, ou localement parsemées de résidus cellulaires.

La couche interne est limitée extérieurement par une ligne sombre qui se replie en de très nombreuses villosités (fig. 7) non plus simples

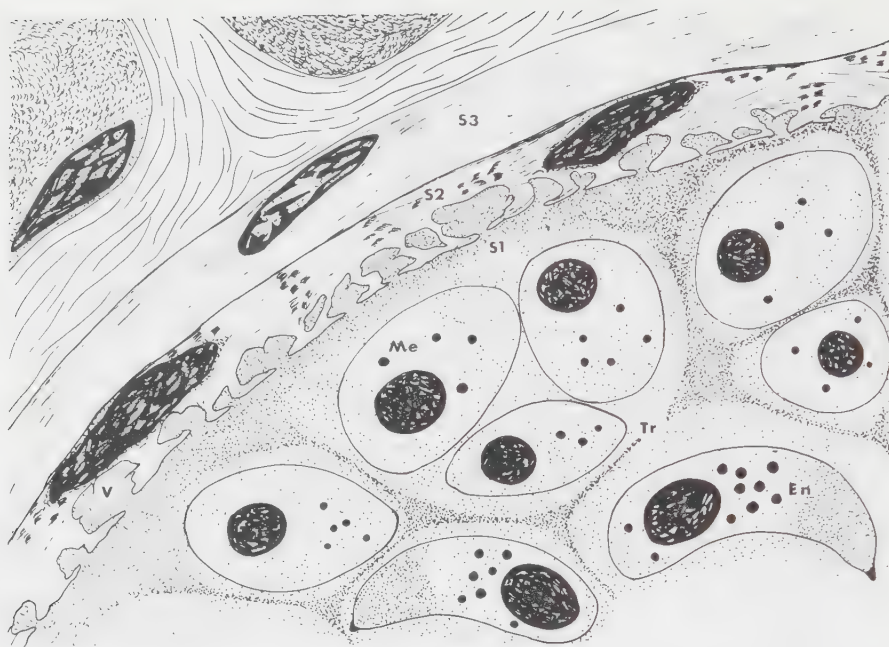


FIG. 8. — Kyste âgé de *Sarcocystis tenella* : les villosités (V) de la strate interne (S1) sont atrophiées, ainsi que la strate musculaire (S2).
En : endodocyte; Me : métrocyte; Tr : travées. $\times 3000$.

comme dans les stades précédents mais en forme d'arbuscules plus ou moins élevés de 1 à $4,5 \mu$ de haut (Pl. III, fig. 16). Chaque villosité, au pédoncule étroit et très court, est constituée d'un groupe d'expansions ramifiées et massives en forme de choux-fleur (Pl. I, fig. 7; Pl. II, fig. 10). En général, les coupes transversales laissent apparaître à la surface du kyste l'alternance d'une grande villosité ($4,5 \mu$ de haut) avec un ensemble (2 à 4) de villosités plus petites (1 à 2μ). Leur taille varie également avec celle du kyste, donc avec l'âge du nodule parasitaire (fig. 8).

Ces arbuscules se colorent par l'éosine et le vert lumière de façon identique à la substance constitutive de l'enveloppe sous-jacente. Cependant, elles prennent plus intensément le bleu de bromophénol mercurique, le vert rapide et la fuchsine d'ALTMANN (Pl. I, fig. 9). En outre, le test selon la méthode de GOMORI au nitrate de cobalt (LISON, 1960), utilisé pour la mise en évidence de la phosphatase alcaline, est positif à ce niveau; ce qui laisse supposer un métabolisme intense dans cette région. Contrairement à ce que signale LUDVIG (1958), nous

n'avons jamais observé de noyau dans cette couche de $8\,000 \text{ \AA}$ d'épaisseur. Les noyaux que cet auteur a pu voir ne sont que ceux des cellules très comprimées et difficiles à voir, des premières loges situées au-dessous. L'observation de coupes ultrafines nous permet de confirmer et de préciser la constitution exacte de cette enveloppe.

Du côté interne et au niveau des travées délimitant les loges sa substance constitutive n'est limitée par aucune membrane propre et c'est directement la membrane des cellules sous-jacentes qui la borde (Pl. VI, fig. 24). Elle est constituée essentiellement de filaments plus ou moins spiralés et entremêlés de façon assez lâche mais homogène (Pl. III, fig. 16). Au centre du kyste, les travées de plus en plus grêles ont un aspect plus grossier, dû à un alignement des microfibrilles (Pl. XVII, fig. 80). Leur colorabilité augmente; des vésicules apparaissent et semblent rejetées vers les loges elles-mêmes, où elles se mêlent aux produits de dégénérescences des éléments cellulaires (Pl. VII, fig. 27). Parfois les travées centrales sont comme limitées localement par un double feuillet qui pourrait

faire croire à l'existence d'une limitante interne (Pl. XVII, fig. 80). En réalité, ce sont des arrangements de type myélinique provenant de l'involution des cellules.

La surface des villosités est revêtue d'une membrane unitaire de 80 à 100 Å d'épaisseur et elle est constituée de la juxtaposition d'alvéoles de 350 à 400 Å de profondeur moyenne sur 700 Å de diamètre (Pl. III et Pl. IV, fig. 18). La membrane est hérissée de fins et denses prolongements (de 200 Å de long) dont il est difficile de préciser s'ils représentent des microvillosités ou des particules fixées sur cette dernière (Pl. IV, fig. 20). Elle est doublée d'une strate fortement contrastée, granuleuse, sorte d'épiplasma plus épais (250 à 400 Å d'épaisseur) sous les crêtes limitant les alvéoles que dans leur fond même (Pl. III et Pl. IV, fig. 20). La structure alvéolaire ici réalisée n'est pas sans évoquer celle des tubules du spongiome (MIGNOT, 1966) et laisse penser qu'elle n'est pas sans rapport avec les processus d'échange entre le parasite et la cellule-hôte.

De la base des villosités et dans leur *internum*, s'épanouissent de nombreux éléments fibrillaires de 120 à 180 Å de diamètre (Pl. IV, fig. 17). Ce sont des tubules dont la lumière, claire sur les clichés, varie de 80 à 120 Å tandis que la paroi ne dépasse pas 20 à 40 Å d'épaisseur. Celle-ci n'est pas homogène et sur certains clichés, elle semble se résoudre en plusieurs protofibrilles spiralées (Pl. IV, fig. 17, 20). Ces fibres disposées en gerbes entrecroisées (Pl. IV, fig. 17, 19), se prolongent en un trajet rectiligne jusqu'à la surface des villosités. Elles aboutissent sur le pourtour des alvéoles. Elles auraient un rôle de soutien des villosités.

En outre, on remarque souvent entre les différents tubules et jamais à l'intérieur de ceux-ci (Pl. IV, fig. 17), des files de grains très osmophiles, de 200 à 500 Å, apparemment formés de particules très serrées les unes contre les autres au centre, plus diffuses à la périphérie (Pl. IV, fig. 20). Fibres et grains sont inclus dans une substance homogène microfibrillaire analogue à celle de la strate dense sous-jacente aux villosités.

Certains auteurs avaient cru devoir comparer ces diverticules très découpés au complexe des villosités placentaires des Mammifères (LUD-

VIK, 1958). Mais nous constatons que, si l'aspect morphologique grossier de cette strate rappelle une telle structure, il n'en est pas moins vrai que l'ultrastructure complexe du placenta avec mitochondries, ergastoplasme et autres organites cellulaires, décrites par PANIGEL et NGUYEN, H. AHN (1964) n'est pas comparable à celle beaucoup plus simple de l'enveloppe kystique des Sarcosporidies.

Si la présence de villosités paraît générale chez les Sarcosporidies, leur morphologie ne peut être tenue à priori pour caractéristique d'un genre ou d'une espèce donnée. Des modifications de détail ont été signalées chez des espèces différentes: ainsi chez *S. Miescheriana* (LUDVIK, 1960), elles sont trapues et régulières alors qu'elles sont très ramifiées chez *S. tenella*, fines chez *S. lacertae*, hypertrophiées et volumineuses chez *S. platydactyli* (CHATTON et AVEL, 1923). En fait, nous venons de voir que dans une même espèce, leur forme passe par des états variables au cours du développement du kyste. D'autre part, il n'est pas impensable que chez des hôtes d'espèces différentes, une même Sarcosporidie puisse émettre des villosités de type différent. En conséquence, la morphologie des villosités ne peut être tenue pour caractéristique d'une espèce qu'après une indispensable étude de l'évolution totale de l'enveloppe kystique.

Du côté externe, les villosités sont profondément implantées dans un matériau complexe plus ou moins structuré selon l'âge du kyste (Pl. III, fig. 16). Sur les kystes de 1 à 3 mm de diamètre (Pl. I, fig. 7), on reconnaît aisément les groupements fibrillaires plus ou moins orientés, caractéristiques de la structure périodique des fibres musculaires. Cependant, en microscopie électronique (Pl. III) on constate que la substance musculaire est complètement désorganisée entre les villosités et à leur contact. Les restes des myofibrilles sont dissociés sous forme d'éléments granulo-fibrillaires très lâches. Par contre, au delà des villosités, les groupements myofibrillaires dont l'organisation est fortement perturbée, sont mêlés à de très nombreuses mitochondries typiques. On remarque, disséminées, çà et là, de très grandes vacuoles limitées par une membrane unique. Cette strate d'origine musculaire présente le plus souvent dans sa bordure distale une zone granuleuse à très

nombreux noyaux et constituant les restes du sarcoplasme nucléé, limité extérieurement par les reliquats du sarcolemme dissocié (Pl. III).

Si ces structures musculaires sont encore nettement reconnaissables dans le cas des kystes relativement jeunes, dans la majorité des kystes adultes toutes les myofibrilles et mitochondries de plus en plus vacuolisées sont intimement mêlées et de plus en plus méconnaissables (Pl. V, fig. 22, 23, fig. 8). Cette désorganisation profonde de la fibre parasitée explique que ALEXÉIEFF (1913) étudiant surtout de gros kystes ne retrouve pas de strate musculaire et se borne d'indiquer l'existence d'une paroi hyaline astructurée sans pouvoir en préciser l'origine, puisque pour lui toute l'enveloppe kystique et les travées proviennent de la transformation du sarcoplasme de la cellule musculaire parasitée.

Au delà, mais intimement appliquée contre la fibre musculaire, on rencontre une couche de 4 à 6 μ d'épaisseur, uniformément colorable en bleu par le bleu d'aniline acétifié de MASSON, et en rose violacé par le picropolychrome de HÉROVICI (1960). Elle est donc probablement de nature collagène. En outre, certains tests nous ont permis de mettre en évidence à ce niveau une grande abondance de polysaccharides : la réaction par l'APS (Pl. I, fig. 8), confirmée par la métachromasie au bleu de toluidine, y est nettement positive et donne une vive coloration rouge brillante qui persiste avec autant d'intensité après action de la salive à 37°, tandis que la réaction de BAUER (caractéristique du glycogène) y est négative. Comme la coloration par le bleu Alcian, selon la technique de VIALLI (LISON, 1960), teinte en bleu vert cette couche, il s'agirait de glucides à fonction acide qui y seraient accumulés.

Sur coupes ultrafines, cette enveloppe externe apparaît sous forme d'un feutrage de filaments à structure périodique, de même orientation générale (Pl. III, Pl. V, fig. 21). D'après sa situation autour de la fibre musculaire parasitée, cette strate est constituée par l'accroissement des différentes fibres du tissu conjonctif qui entoure normalement chaque fibre musculaire. Elles servent à l'accumulation des polysaccharides qui pourraient être utilisés par le complexe hôte parasite.

Au delà de cette troisième strate on retrouve les tissus musculaire et conjonctif normaux non modifiés.

Le problème de la nature de l'enveloppe générale du kyste est donc résolu par l'étude de son évolution. L'enveloppe du kyste adulte est constituée de trois couches distinctes morphologiquement, et originellement. La plus externe, de nature conjonctive, provient des tissus conjonctifs hypertrophiés « emballant » les fibres musculaires de l'hôte. La couche moyenne est constituée de la fibre musculaire parasitée qui est plus ou moins modifiée selon l'âge du parasite, mais qui, dans les jeunes stades adultes, est encore parfaitement reconnaissable. Enfin, l'enveloppe interne appartiendrait en propre au parasite. En effet, dans les stades initiaux unicellulaires on ne remarque jamais de complexe cellule hôte-parasite et c'est uniquement la cellule parasitaire qui se loge dans la fibre musculaire; d'autre part, dans tous les stades kystiques, nous n'avons jamais trouvé de matériel nucléaire ni dans la strate interne, ni dans les villosités, ni dans les travées, comme c'est le cas chez le *Globidium* (CHATTON, 1910-1938a-b). Enfin, l'absence de toute limitante du côté interne de cette strate et le fait que les cellules sont directement à son contact sont en accord avec cette idée.

D. Devenir et dégénérescence des kystes.

Au cours de l'accroissement de la taille des nodules kystiques, le volume relatif occupé par les différentes cellules diminue : sur une coupe d'un kyste d'un centimètre carré environ, les cellules localisées à la périphérie, directement sous l'enveloppe, n'occupent plus que le tiers de la surface. Les loges centrales sont vides de tout élément figuré; à la limite des deux zones, certaines loges contiennent encore quelques cellules en régression mêlées à des débris cellulaires (Pl. VII, fig. 27 et Pl. XVII, fig. 80).

De son côté l'enveloppe kystique devient de plus en plus fine. Les villosités diminuent de taille, régressent sans toutefois disparaître (fig. 8). La couche moyenne musculaire s'amincit et il devient très difficile, voire même impossible en microscopie photonique d'y reconnaître la structure musculaire. Seules les microphoto-

graphies électroniques permettent de suivre les modifications progressives de la fibre parasitée (Pl. V, fig. 22-23). La strate externe conjonctive garde toujours la même colorabilité.

La pratique montre que la moindre contrainte fait aisément éclater de tels kystes. Il est donc probable que, parvenus à cet état de maturation, ils éclatent dans le milieu intérieur de l'hôte sous l'effet des contractions musculaires (au passage du bol alimentaire par exemple). Sur les œsophages d'animaux présentant des kystes énormes, il est fréquent d'en remarquer de nombreux dont le contenu s'est écoulé dans la musculature environnante. Ces kystes éclatés forment des sortes de plages à l'aspect purulent au niveau desquelles quelques éléments cellulaires parasites peuvent être parfois retrouvés, mais toujours libres et jamais phagocytés par les leucocytes. A ce moment, la plupart des cellules échappées du kyste sont en migration vers de nouveaux tissus. Elles peuvent être alors observées dans le sang des animaux.

Après la libération des cellules parasites, des lymphocytes, des polynucléaires, et d'énormes cellules amiboïdes envahissent la cavité kystique dont le contenu devient caséux et où apparaissent des points de calcifications (Pl. II, fig. 12). Les cellules géantes détruisent complètement les résidus kystiques. La calcification se propage de proche en proche et l'emplacement du kyste n'est plus occupé que par une masse calcifiée entourée d'une barrière de tissu conjonctif disposée en strates sensiblement concentriques (Pl. II, fig. 13). Les fibres environnantes sont plus ou moins atteintes comme l'ont constaté déjà JANIN (1907) chez le Mouton et BESNOIT et ROBIN (1913-1914a, b, c) chez le Bœuf. Les nodules sarcosporidiens calcifiés ne doivent pas être confondus avec ceux d'origine tuberculeuse ni avec les kystes calcifiés de *Cysticerque* (AWAD, 1954a).

Le terme du développement des stades kystiques intramusculaires des *Sarcosporidies* est donc la mise en circulation des éléments cellulaires dans les milieux internes de l'hôte.

Avant d'aborder l'étude morphologique des différents éléments cellulaires de ces parasites, celle de leurs processus évolutifs à l'intérieur du kyste lui-même, nous signalerons les grandes lignes du développement d'un autre *Toxoplas-*

mea : *T. gondii* dans les différents tissus de Vertébrés.

II. — Aperçu du cycle développement de *Toxoplasma gondii*

Chez un animal atteint de toxoplasmose aiguë, les parasites se présentent sous diverses formes : soit libres dans divers milieux, soit intracellulaires (forme que certains auteurs appellent pseudokystiques), soit encore, mais beaucoup plus rarement, et seulement dans les cas chroniques, sous forme de kystes ou pseudokystes (selon divers avis) localisés dans des tissus privilégiés (cerveau, poumon). Après injection expérimentale à un animal d'une souche virulente de *Toxoplasmes*, on observe d'abord des formes extracellulaires qui pénètrent rapidement dans n'importe quelles cellules de l'hôte qui les héberge, où elles vont se diviser activement par divers processus dont nous reparlerons. La phase de multiplication se déroule rapidement (4 à 7 jours), et les *Toxoplasmes* migrent dans la plupart des tissus. Il est très rare que les *Toxoplasmes* parasitent les globules rouges, bien que nous ayons pu en relever quelques cas. On considère généralement que les cellules parasites pénètrent activement, grâce à leur pôle antérieur, à travers la membrane de la cellule parasitée, mais on admet aussi qu'elles peuvent être phagocytées par cette dernière (LUDVIK, 1963b).

Le parasite se développe alors parfaitement dans la cellule hôte (leucocyte par exemple) où il subit tous les processus de division analogues à ceux des cellules libres. Quelquefois, les *Toxoplasmes* sont logés dans l'espace périnucléaire très dilaté du noyau de la cellule hôte. Dans les cas où ils sont dans le caryoplasme même, ils ne sont entourés par aucune membrane (Pl. XIX, fig. 87). Généralement, cependant, les parasites sont situés dans le cytoplasme des cellules hôtes. Dans ce cas, ils ne sont jamais en contact direct avec le hyaloplasme mais envacuolés (Pl. IX, fig. 34). Dans l'espace vacuolaire libre, autour des parasites, et issu apparemment de la paroi même de la vacuole, se développe parfois un chevelu (Pl. XIX, fig. 86) abondant et dense de structures tubulaires de

120 à 160 Å de diamètre et que LUDVIK (1963b) avait défini comme des « stéréocils » originaires de la cellule hôte. La vacuole peut être, en outre, entourée par plusieurs enveloppes de *réticulum* et par un certain nombre de mitochondries directement à son contact. Après multiplication, les Toxoplasmes font éclater la cellule hôte, et vont parasiter de nouvelles cellules. C'est le stade de généralisation, durant lequel les Toxoplasmes peuvent être dans tous les organes de l'individu (foie, rate, poumon, pancréas), dans les humeurs vitrée et aqueuse, dans le système réticulo-endothélial, etc. Cette phase est généralement mortelle pour de nombreux animaux, dont la Souris qui meurt en 4 à 7 jours, tous ses organes étant alors envahis par les parasites. Parfois, cependant, l'animal résiste en produisant des anticorps et, après la phase aiguë, les parasites disparaissent de la plupart des organes, la maladie entrant dans une phase chronique ou latente. C'est alors que la toxoplasmose est difficilement décelable par la mise en évidence directe du parasite et que les méthodes sérologiques prennent toute leur importance. Les parasites sont refoulés vers certains tissus de prédilection dont principalement le cerveau. Ils y apparaissent sous forme de nodules de petite taille (5 à 20 μ) mais pouvant atteindre exceptionnellement 100 μ . Ces nodules sont essentiellement constitués de cellules serrées, entourées d'une enveloppe kystique résistante (Pl. II, fig. 15). Comme dans le cas des Sarcosporidies, la question de l'origine de la paroi kystique est posée. Si certains auteurs la tiennent pour élaboration de la cellule hôte initialement parasitée (FRENKEL et FRIEDLÄNDER in FRANÇOIS, 1963, p. 13), pour d'autres, comme GARNHAM et ses collaborateurs (1962a), elle dérive directement de « la persistance et de la puissante hypertrophie de la membrane de l'organisme primordial » qui s'est divisé par la suite. Dans ce cas, les nodules résistants sont de vrais kystes et non des pseudokystes, et les diverticules, sorte de microvillosités très discrètes de l'enveloppe, observés en microscopie électronique par ces auteurs, seraient donc analogues aux grandes villosités de la strate interne de l'enveloppe kystique des Sarcosporidies.

Le devenir de ces kystes toxoplasmiques n'est pas bien défini. On sait, cependant, que des broyats de cerveau contenant de nombreux no-

dules peuvent transmettre la maladie par injection.

D'autre part, très certainement dans des conditions bien déterminées dont on ne connaît rien des mécanismes, la rupture des kystes, en libérant les Toxoplasmes emprisonnés, détermine des infections aiguës chroniques.

III. — Les éléments cellulaires des *Toxoplasmea* et leur évolution

Tous les auteurs ont noté l'existence dans les kystes sarcosporidiens de deux types de cellules : des cellules périphériques ou « cellules mères » et les « spores ». Les cellules mères (MUTTERZELL de ERDMANN, 1914b) ou sporoblastes (ALEXÉIEFF, 1913) ou encore cytomères (GRASSÉ, 1953) occupent tout le volume des kystes jeunes et elles constituent une zone de multiplication importante dans les kystes mûrs où elles sont localisées dans les premières loges situées directement sous l'enveloppe kystique. Nous les désignerons sous le vocable de métrocytes (1). Progressivement, par divisions successives, ces métrocytes donnent naissance à des cellules allongées, en forme de banane auxquelles les noms de corpuscules de RAINEY, de spores, de sporozoïtes, de schizozoïtes et de trophozoïtes ont été attribués. Nous leur préférons le terme d'endodyocyte (2) qui tient à la fois compte de notre ignorance sur leur nature même et du processus de division qui est réalisé dans leur évolution.

Chez les Toxoplasmes la présence de métrocytes serait probable et on retrouve les mêmes phénomènes particuliers de division de leurs endodyocytes.

A. Les métrocytes et leur évolution.

1. — Chez *S. tenella* :

Ces cellules de 3 à 6 μ de diamètre, disposées sur trois ou quatre rangées au maximum (fig. 7) grossièrement globuleuses in vivo (fig. 9), irrégulières, parfois polygonales par pression réci-

(1) du grec μήτηρ : mère et κύτος : cellule.

(2) du grec Ενδον : à l'intérieur, δύο : deux, κύτος : cellule.

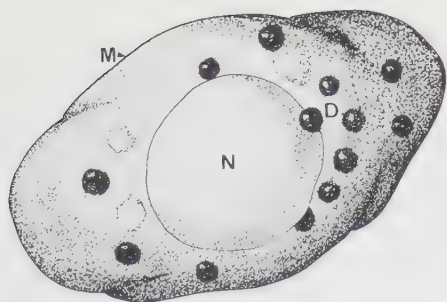


FIG. 9. — Métrocyte de *Sarcocystis tenella* (*in vivo*); le noyau (N) d'aspect vésiculeux est entouré de granules deutoplasmiques (D). M : membrane cellulaire. $\times 6000$.

proque (Pl. II, fig. 11), sont limitées par une membrane cellulaire de 70 à 100 Å d'épaisseur, séparée par une zone plus claire de 150 Å environ, d'une strate sous-jacente osmiophile, continue et apparemment granulo-fibrillaire (Pl. VIII, fig. 33), l'ensemble formant ainsi une enveloppe de 280 à 300 Å (Pl. VI, fig. 24 et fig. 10).

Cette dernière s'invagine profondément dans le cytoplasme sous-jacent en une, parfois deux et peut-être plusieurs cupules ou micropyles de 0,10 à 0,20 μ d'ouverture (Pl. VI, fig. 24 et fig. 10). Au niveau de ces organites, l'enveloppe

subit des modifications (épaississement, adjonction de microfibrilles) qui lui donnent, en coupe transversale, l'aspect analogue à celui des endocytotes (Pl. XI, fig. 46), de deux anneaux emboîtés reliés l'un à l'autre par des structures microfibrillaires.

Au centre de la cellule, le noyau globuleux (fig. 9) de 3 à 4,5 μ de diamètre comporte un nucléoplasme hétérogène plus ou moins granuleux (Pl. VI, fig. 24). La membrane nucléaire est constituée de deux feuillets de 60 Å d'épaisseur séparés par un espace clair de 100 Å environ : le feuillet externe, parfois en continuité avec des saccules ergastoplasmiques, est parsemé de grains de PALADE. Répartis sur toute la surface du noyau, les pores nucléaires de 450 Å environ de diamètre, limités par la soudure des deux feuillets de la membrane nucléaire, prennent en coupe tangentielle, un aspect en roue dentée caractéristique, dû à la présence de 8 épaississements disposés généralement autour d'un granule central de 80 Å (Pl. VI, fig. 26). Ces pores sont distants les uns des autres de 1 000 à 1 200 Å et ils sont grossièrement arrangés en files régulières. La substance nucléaire, bien que généralement homogène présente souvent des modifications certaine-

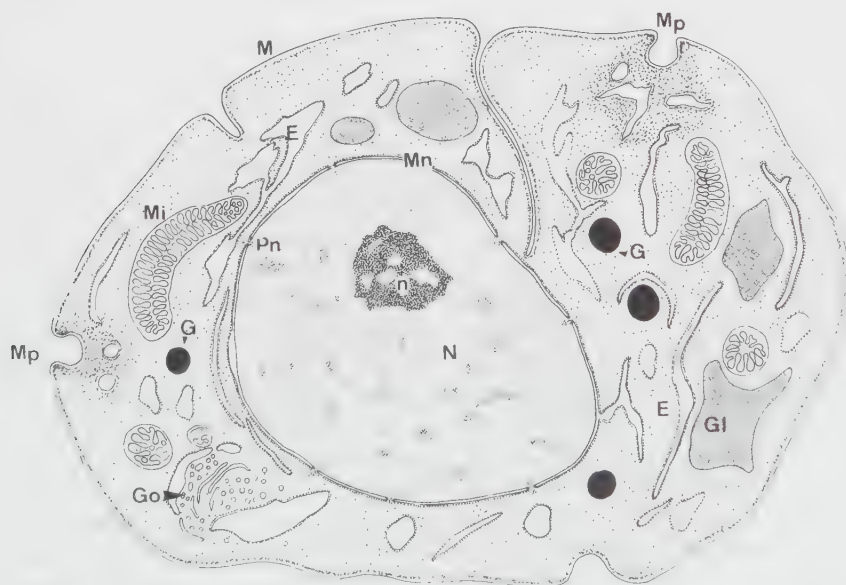


FIG. 10. — Interprétation schématique des ultrastructures d'un métrocyte de *Sarcocystis tenella*. E : reticulum endoplasmique; G : granule lipidique; Gl : plages de paraglycogène; Go : appareil de Golgi; M : membrane cellulaire; Mi : mitochondrie; Mn : membrane nucléaire Mp : micropyle; N : noyau; n : nucléole; Pn : pore nucléaire. $\times 12\,500$.

ment en rapport avec l'état physiologique de la cellule. Il n'est pas rare d'y remarquer des densifications plus sombres de taille très variable, d'allure granuleuse, disséminées le plus souvent dans tout le nucléoplasme (Pl. VI, fig. 24), qui sont parfois localisées à la périphérie du noyau où elles peuvent se condenser, et qui correspondent aux faibles colorations données par la réaction de FEULGEN. Un ou deux nucléoles forment des plages irrégulières de 0,6 à 0,9 μ de dimensions et souvent accolées à la membrane nucléaire (Pl. VI, fig. 24).

Dans la région périnucléaire, les colorations par l'A.P.S. et par la méthode BAUER mettent en évidence des amas de polysaccharides homogènes colorables en rouge, aux contours assez réguliers. Après action plus ou moins prolongée de la salive à 37°, ces réactions deviennent négatives. Au microscope électronique (Pl. VI, fig. 24, 25; Pl. VII, fig. 29; Pl. VIII, fig. 30 et fig. 10), ces inclusions massives apparaissent sous forme de grains ou de plages étendues mesurant 200 μ à 1,2 μ . Leur contenu astructuré est de coloration variable selon les techniques de fixation employées; parfois optiquement vide, il peut prendre une coloration grisâtre plus ou moins soutenue. Dans tous les cas, ces amas sont bordés d'un cortex plus ou moins dense dont il est difficile de dire s'il s'agit d'une membrane intimement accolée. De nature glucidique, ils sont morphologiquement comparables aux grains ou navettes d'amylopectine (paraglycogène) décrits chez d'autres Protozoaires (Ciliés : FAURÉ-FRÉMIET et THAUREAUX, 1944; NOIROT-TIMOTHÉE, 1960; GRAIN, 1966, Coccidies : VIVIER et HENNERÉ, 1965).

Le chondriome, mis en évidence au microscope photonique par les techniques classiques d'ALTMANN et de BENDA MEVES, est constitué de bâtonnets plus ou moins courts, épars dans le cytoplasme. Au microscope électronique, ces mitochondries assez nombreuses, de 200 à 400 m μ de diamètre (Pl. VI, fig. 24; Pl. VII, fig. 28 et fig. 10) ont une membrane double de 150 à 200 Å d'épaisseur dont le feuillet interne se projette en des villosités plus ou moins longues (100 m μ), pédiculées, de 200 à 400 Å de diamètre, occupant la majeure partie de l'internum. Parfois, mais très rarement, les microvilli sont peu abondantes et laissent un vaste espace matriciel.

L'appareil de GOLGI (Pl. VI, fig. 25 et fig. 10), que l'on prétendait absent chez les Sarcosporidies, est formé de un ou deux dictyosomes (peut-être plus), de 1,2 μ environ de dimension. Ils sont essentiellement constitués de un ou deux saccules en forme de cupules dont le feuillet convexe est, en général, en relation avec de petites vésicules qui semblent provenir d'un élément ergastoplasmique très proche. Du côté de l'intérieur de la cupule, de très petites vésicules de 200 à 800 Å de diamètre forment un nuage dense qui s'estompe progressivement dans le cytoplasme.

Des saccules d'ergastoplasme parfois ramifiés, de longueur variable, dont le diamètre oscille entre 150 et 400 Å, parcourent la cellule (Pl. VI, fig. 24), et avec les grains de PALADE libres, confèrent sa pyroninophilie au cytoplasme. Le reticulum endoplasmique se renfle également en des vésicules plus importantes atteignant 800 à 1 000 Å. Dans le hyaloplasme sont disséminés parfois quelques granules denses, osmiophiles de nature lipidique (fig. 10), ainsi que des structures vacuolaires dont il est difficile de dire s'il s'agit de vésicules ergastoplasmiques ou de globules de paraglycogène.

Evolution : scissiparité et endodyogénèse.

La microscopie photonique n'est pas ici d'un grand recours, du fait du manque de colorabilité des mérocytes et de leur très petite taille. Cependant les colorations par la laque ferrique ont montré quelques noyaux en fer à cheval ainsi que quelques cellules binucléées.

Au microscope électronique par contre, les clichés obtenus permettent d'interpréter l'évolution de ces cellules de la façon suivante : la multiplication se fait, au début, par scissiparité simple ou multiple (fig. 11). La membrane cellulaire pousse d'importants prolongements intra-cytoplasmiques, tandis que le noyau se divise (Pl. VII, fig. 28 et fig. 11a, b). Les invaginations membranaires finissent par se rejoindre (fig. 11c) isolant ainsi deux mérocytes ou plus (Pl. VII, fig. 29 et fig. 11d, e). Ce processus de division se répète un certain nombre de fois dans les cellules repoussées vers le centre du kyste, mais jamais durant très longtemps, car, la zone du kyste montrant de tels phénomènes est très réduite. Elle s'étend au maxi-

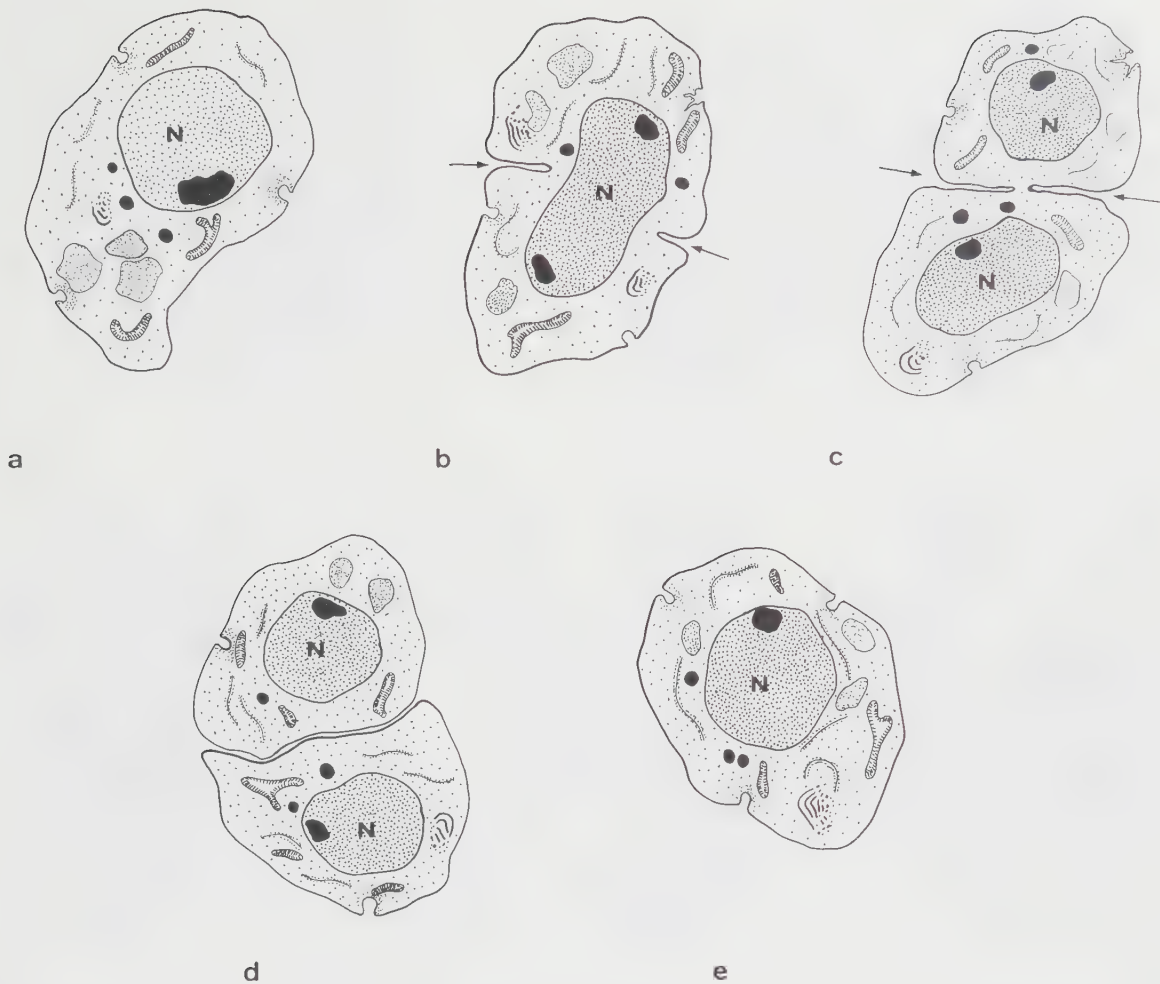


FIG. 11. — Interprétation des phénomènes de division par scissiparité des métrocytes de *Sarcocystis tenella*.
a : métrocyte au repos; b, c : la membrane cellulaire s'invagine (flèches) et le noyau (N) se divise;
d, e : formation des deux nouvelles cellules. $\times 4600$.

mum sur deux couches de loges. On obtient ainsi des métrocytes de 2^o, 3^o génération dont les contours sont plus régulièrement ovoïdes au fur et à mesure que l'on s'enfonce vers l'intérieur du kyste.

Certaines de ces cellules exclusivement situées sous l'enveloppe kystique conservent par contre ces mêmes potentialités de division par scissiparité durant toute la vie du parasite (nous leur réservons le nom d'eumétrocyte), d'autres (hétérométrocytes) issues d'eumétrocytes par scissiparité, circonscrites dans les loges et repoussées vers le centre du kyste, vont subir des processus de division différents, caractéristiques :

l'endodyogénèse. La figure 12 en schématise les étapes qui seront reprises en détail dans la description des phénomènes d'endodyogénèse des endodyocytes.

A l'intérieur des hétérométrocytes, la membrane nucléaire s'estompe, le matériel nucléaire se modèle en U, à partir de deux pôles attractifs en forme de tronc de cône qui s'éloignent l'un de l'autre. En même temps, deux conoïdes surmontant le matériel nucléaire s'ébauchent (Pl. VIII, fig. 30) coiffés d'un capuchon de membrane cellulaire qui se développe en progressant vers la région nucléaire, isolant ainsi deux portions cytoplasmiques uninucléées (Pl. VIII,

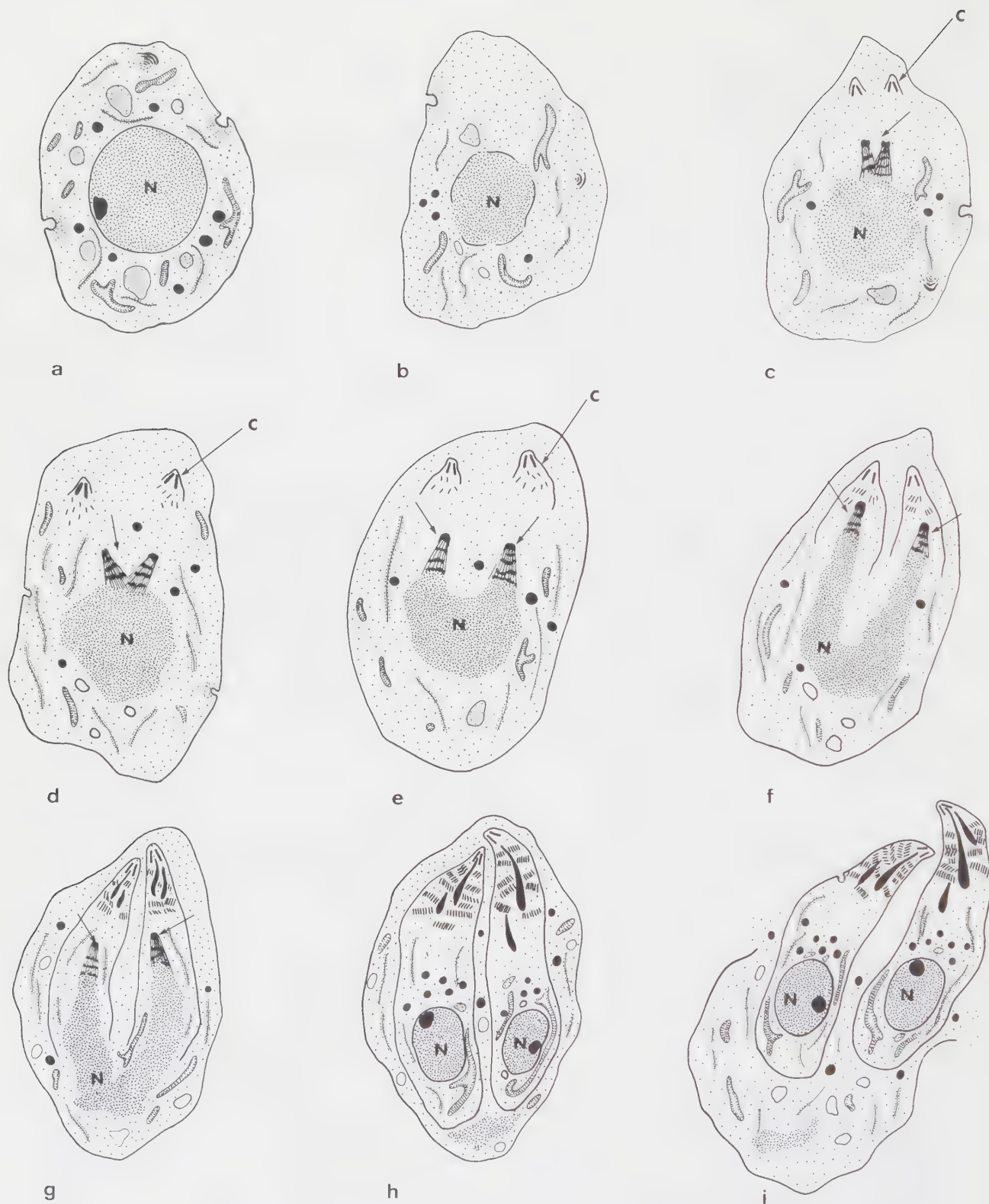


FIG. 12. — Interprétation des phénomènes d'endodyogénèse des hétérométrocytes de *Sarcocystis tenella*.
 a : hétérométrocyte au repos; b, c, d : formation des centrosônes (flèches) orientant la division du noyau;
 e, f, g : formation du complexe apical; h, i : fin de l'endodyogénèse
 et mise en liberté des 2 cellules-filles. C : complexe apical; N : noyau. $\times 4600$.

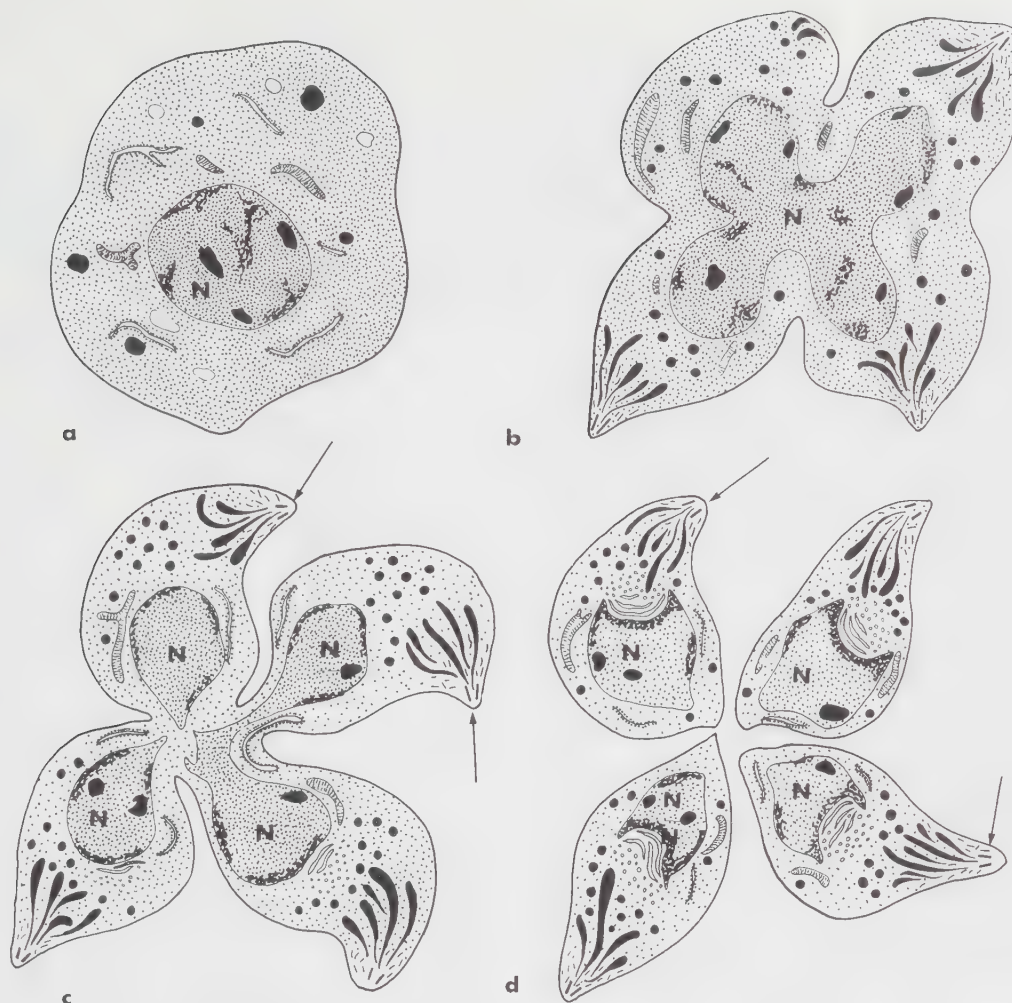


FIG. 13. — Interprétation des phénomènes de scissiparité multiple de *Toxoplasma gondii*.
a : cellule initiale pourvue ou non d'un complexe apical; b, c : invaginations de la membrane cellulaire et division du noyau (N); d : isolement de plusieurs cellules pourvues d'un complexe apical. $\times 5600$.

fig. 31), dans lesquelles s'organisent les différentes structures caractéristiques des endodyocytes (conoïde, sarconèmes, fibres sous-pelliculaires, etc.). A la fin de ces processus, les deux cellules filles qui peuvent prendre des positions respectives variables dues à leur mobilité dans le cytoplasme de la cellule mère, font irruption à l'extérieur par éclatement de la membrane de cette dernière (fig. 12h et i). Les résidus cytoplasmiques et nucléaires constituent les produits de dégénérescence observés dans l'intérieur des loges : granules, vésicules, débris de membrane.

En résumé : certains eumétrocytes après plu-

sieurs divisions par scissiparité produisent des hétérométrocytes qui, par un seul processus d'endodyogénèse forment les premiers endodyocytes.

2. — Chez *T. gondii*.

Dans l'exsudat péritonéal de Souris, nous avons obtenu, en microscopie électronique, de rares images d'une multiplication de forme schizogonique ou scissiparité multiple de *Toxoplasmes* généralement intracellulaires (fig. 13). Ce processus assez fugace, semble n'exister certainement qu'au début d'une nouvelle infestation. La rareté de ce phénomène est d'ailleurs déjà

notée par GAVIN et coll. (1962). D'après ces auteurs, les cellules ainsi formées dériveraient d'une cellule toxoplasmique multinucléée. Par la suite, la membrane cellulaire s'invagine en des sillons qui délimitent des portions radiaires de cytoplasme (fig. 13a, b, c). Dans ces différentes portions, les organites caractéristiques des futurs endodyocytes (toxonomes, sarconèmes, fibres périphériques) apparaissent (Pl. VIII, fig. 32). Il se forme ainsi plusieurs cellules (fig. 13d). Ce type de multiplication est analogue, apparemment, à la phase schizogonique d'autres Protozoaires tels que les *Plasmodium* (RUDZINSKA et TRAGER, 1961) où d'après GAVIN (1962), le résidu cytoplasmique reliant les différentes cellules filles correspond au point de rupture central de la rosette des *Toxoplasmes*.

Ce processus de division en rosette de *Toxoplasma* est d'autre part comparable à la scissiparité des eumétrocytes des Sarcosporidies, mais il produit directement les premiers endodyocytes alors que chez *S. tenella* la production des premiers endodyocytes ne se fait que par endodyogénèse. Dans les deux cas néanmoins, les endodyocytes n'auraient plus, par la suite, d'autre mode de multiplication que l'endodyogénèse. Les métrocytes de *T. gondii* sont donc à rapprocher des eumétrocytes de *Sarcocystis* par leur mode de division et des hétérométrocytes par la production des endodyocytes.

B. — Les endodyocytes des *Toxoplasmea*.

Si la plupart des chercheurs ont très mal décrit les métrocytes des Sarcosporidies, ils ont par contre toujours été très intéressés par les « spores » de ces parasites qui, sous forme de corpuscules en banane apparemment immobiles, très réfringents sont de loin les plus nombreux (Pl. II, fig. 14).

Dans le cas de *Toxoplasma*, à part les éléments kystiques (Pl. II, fig. 15) assez rares et peu étudiés, ce sont les éléments libres ou intracellulaires qui ont été l'objet de recherches fig. 14 et Pl. IX, fig. 34-35).

1. — Observation *in vivo* des cellules et de leurs mouvements :

Le contenu d'une ascite de Souris infectée avec *Toxoplasma gondii* se présente sous forme

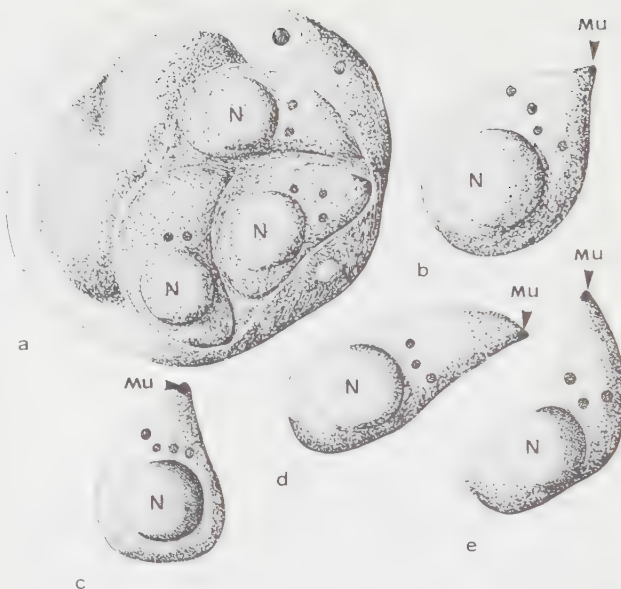


FIG. 14. — *Toxoplasma gondii* de l'exsudat péritonéal de Souris (*in vivo* et en contraste de phase). a : trois *Toxoplasmes* dans un leucocyte. b à e : *Toxoplasmes* libres piriformes ou en forme de larme. Mu : mucron apical; N : noyau. $\times 4200$.

d'un liquide en général opalescent qui peut parfois coaguler assez rapidement à l'air. Si on examine ce liquide au microscope, les éléments cellulaires toxoplasmiques apparaissent sous forme de corpuscules libres ou intracellulaires (fig. 14) assez réguliers, piriformes ou en croissant, dont l'une des extrémités est généralement arrondie, l'autre plus pointue étant munie d'une sorte de granule plus réfringent. La taille des cellules est variable et oscille entre 3 à 7 μ de long (5 μ en moyenne) et 1 à 3 μ de diamètre (1,5 μ en moyenne). Le noyau difficilement visible apparaît en contraste de phase, comme une vésicule de 1 à 1,5 μ de diamètre entouré de quelques petites granulations. Certains chercheurs ont pu observer la motilité des *Toxoplasmes*. A 37°, en milieu convenable isotonique l'extrémité antérieure de la cellule s'effile en un rostre mobile (DOBY, 1951). Pour cet auteur le *Toxoplasme* peut se mouvoir lui-même en prenant appui sur un support (leucocyte, amas de cellules toxoplasmiques). Pour d'autres au contraire (LUDVIK, communication personnelle) les *Toxoplasmes* se déplacent de façon très rapide en effectuant des sortes de bonds importants. Nous n'avons observé que



FIG. 15. — *Sarcocystis tenella* : endodyocyte (*in vivo* et en contraste de phase). Noter la striation du tiers antérieur de la cellule (flèche).

D : grains deutoplasmiques; N : noyau; Mu : mucron apical. $\times 5000$.

des mouvements assez lents de la cellule difficilement dissociables, parfois, des mouvements browniens.

Les endodyocytes de *S. tenella* apparaissent *in vivo* comme des corpuscules en banane, très réfringents (Pl. II, fig. 14), avec une extrémité

antérieure effilée et une région postérieure arrondie. On ne distingue aucune expansion, ni ornementation de leur paroi et leur longueur varie de 10 à 15 μ , leur diamètre moyen n'excédant pas 3 à 4 μ (fig. 15).

L'apex des endodyocytes peut prendre différents aspects : ou bien cette extrémité est grossièrement arrondie, surmontée d'une petite évagination apicale en forme de mucron ou de pointe mousse (PERRIER, 1907) ou bien elle est plus ou moins étirée vers l'avant en un prolongement effilé (fig. 16a et f). Ce mucron est toujours très réfringent, comme s'il était occupé par un corpuscule dense (fig. 15). A 37° nous avons observé un léger mouvement de cette région qui peut s'orienter dans diverses directions, tout en s'étirant vers l'avant (fig. 16a, b, c, d).

Trois régions sont habituellement différenciées dans l'endodyocyte de *S. tenella* (ALEXÉIEFF, 1913; LUDVIK, 1958; SENAUD et de PUYTORAC, 1962) (fig. 15). Une zone antérieure, apparemment homogène, prend l'aspect d'une vacuole à contenu très pâle. Elle peut présenter une striation transversale, annulaire, régulière qui apparaît ou disparaît selon les états physiologiques de la cellule. On ne peut savoir si cette striation est l'image d'un état physiologique normal ou bien si elle est due à l'altéra-

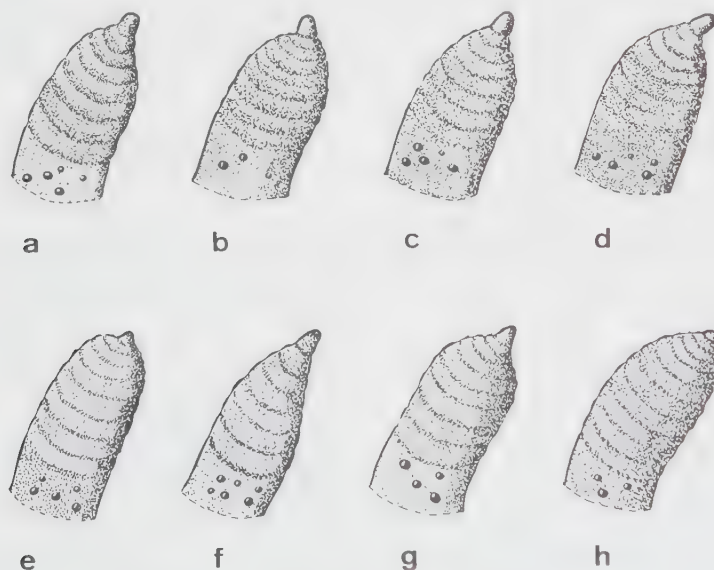


FIG. 16. — *Sarcocystis tenella* : différents aspects du mucron antérieur de l'endodyocyte (*in vivo* et en contraste de phase). $\times 2900$.

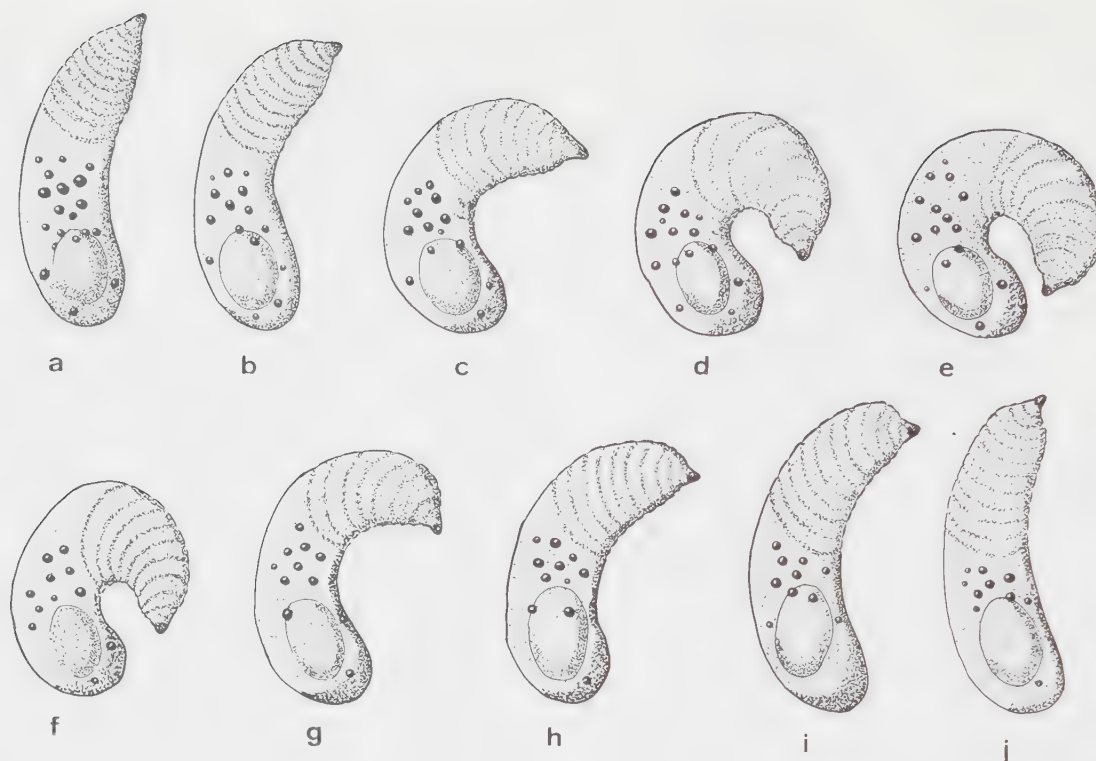


FIG. 17. — *Sarcocystis tenella* (in vivo et en contraste de phase). Mouvement de flexion de l'endodyocyte. $\times 2650$.

tion de la cellule. Quoiqu'il en soit, cette striation correspond à un plissement de la membrane cellulaire, qui pourrait être la conséquence des mouvements importants de cette zone qui contient, comme nous le verrons, un grand nombre d'éléments structurés.

Des granules réfringents ou granules métachromatiques (ALEXÉIEFF, 1913) ou encore grains moyens occupent tout le tiers moyen de la cellule et ils peuvent se déplacer dans le cytoplasme. Ces grains régulièrement arrondis sont mêlés à des plages de forme variable qui surmontent le noyau dont la membrane est généralement très contrastée. D'autres granules et quelques structures filamenteuses (mitochondries) entourent la zone nucléaire.

Contrairement à l'opinion de LAVERAN et MESNIL (1899a) qui croyaient les spores des Sarcosporidies immobiles, KOCH (1901, 1904) y décrit des mouvements de translation et SCOTT (1930) observe un mouvement rapide des cellules qui traversent tout le champ du microscope en quelques secondes. Un mouvement de

flexion très lent affecte la partie antérieure de la cellule (LUDVIK, 1956).

Dans du sérum de Mouton, maintenu à 37° sur la platine chauffante de Zeiss, les endodyocytes de *S. tenella* présentent 3 types de mouvements :

a) *Mouvement de flexion* : (fig. 17).

L'endodyocyte accentue sa courbure initiale jusqu'à ce que son pôle postérieur soit en contact avec son extrémité apicale. Puis, après un repos de 10 à 20 secondes il se détend lentement et reprend sa forme habituelle en banane. Le mouvement complet s'effectue ainsi en deux minutes environ.

b) *Mouvement de balancement* (fig. 18) :

Le mucron est immobile, appuyé sur un support tel que lame porte-objet, débris, la partie postérieure de la cellule se balançant de part et d'autre de sa position d'équilibre en 90 secondes environ. Ce mouvement assez régulier est le plus fréquemment observé.

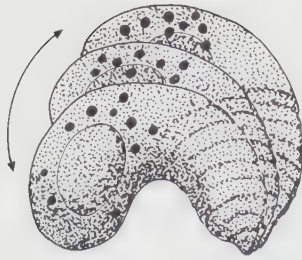


FIG. 18. — *Sarcocystis tenella* (in vivo; en contraste de phase). Mouvement de balancement de l'endodyocyte. $\times 2650$.

c) *Mouvement de glissement* (fig. 19) :

Les mouvements précédents s'effectuent sans déplacement effectif de la cellule par rapport à son support. Celui de glissement par contre correspond à un déplacement réel de la cellule. Il est très lent, puisque l'endodyocyte ne parcourt environ en une minute que sa propre longueur soit 12 à 20 μ maximum. Ce mouvement de glissement sur un substrat est souvent combiné avec les mouvements de balancement.

Si l'endodyocyte des Sarcosporidies est effectivement un élément mobile, il nous semble cependant difficile, vu le peu d'ampleur et de puissance des mouvements, qu'il puisse effec-

tuer de très longs parcours actifs au cours de sa migration dans les différents tissus de l'hôte. Par contre, ces mouvements jouent très certainement un rôle au moment de la fixation même de la cellule dans la fibre musculaire : la cellule doit, en effet, s'insinuer entre les cellules conjonctives, pénétrer ensuite le sarcolemme et s'implanter dans les myofibrilles. Le transport à longue distance s'effectuerait par contre, au moyen des mouvements propres des liquides intérieurs de l'hôte.

2. — *Ultrastructure des endodyocytes.*

a) *La paroi cellulaire.*

Elle doit être assez souple puisqu'elle permet des mouvements de torsion du mucron chez *Toxoplasma* et les mouvements plus amples de flexion et de glissement de *Sarcocystis*. C'est une enveloppe de 80 à 120 Å d'épaisseur, essentiellement constituée d'une membrane unitaire dont la lame externe est la plus épaisse (20 Å) et la plus dense aux électrons, la lame interne moins contrastée ne mesurant que 10 à 15 Å

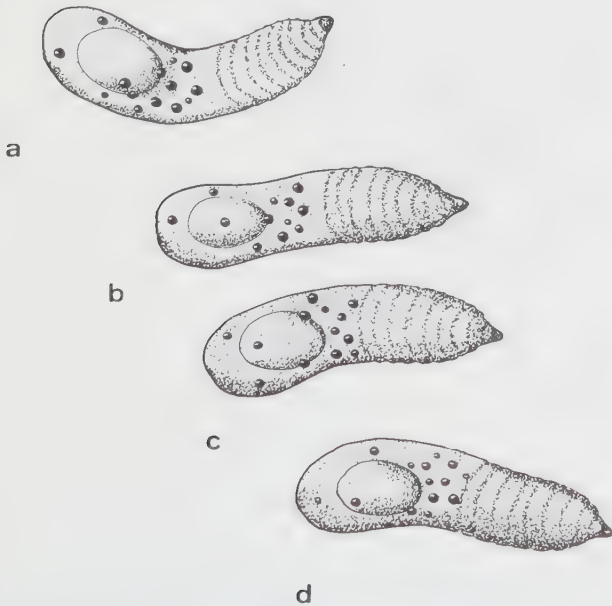


FIG. 19. — *Sarcocystis tenella* (in vivo; en contraste de phase). Mouvement de glissement de l'endodyocyte. $\times 2650$.

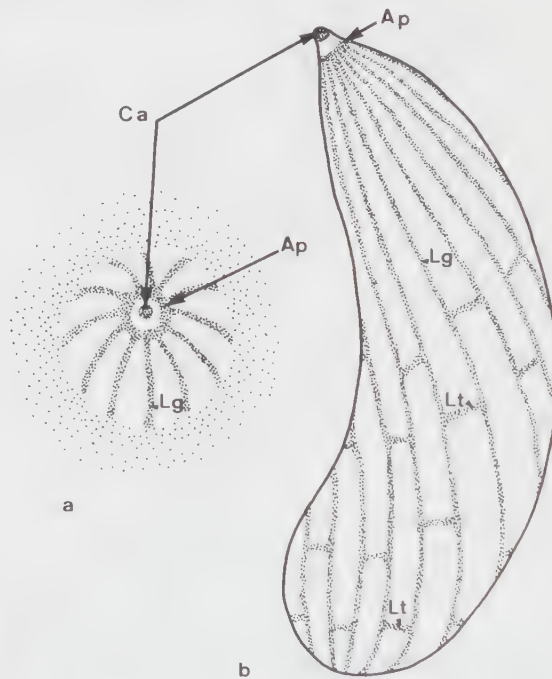


FIG. 20. — L'argyrome de l'endodyocyte de *Sarcocystis tenella*.

a : vue apicale de la cellule; b : vue de profil de la cellule; Ap : anneau polaire; Ca : corpuscule apical; Lg : lignes longitudinales; Lt : lignes transversales. $\times 6700$.

(Pl. IX, fig. 36 et Pl. X, fig. 39 et fig. 21). Cette membrane ne présente aucune différenciation permettant d'y situer le réseau argyrophyle qu'avaient décrit CHATTON (1937) et LUDVIK (1958-1959). Chez *S. tenella* (fig. 20), il est formé d'un anneau antérieur, longeant la base du mucron et entourant un corpuscule central (ou granule polaire). De cet anneau, de 0,8 à 1 μ de diamètre, partent douze lignes longitudinales qui se dirigent vers la partie postérieure de la cellule où elles semblent se rejoindre. Sur leur trajet à peu près rectiligne, elles sont reliées entre elles par des travées transversales, l'ensemble formant une sorte de quadrillage régulier. Dans le cas de *Toxoplasma* ce réseau est beaucoup plus déformé (LUDVIK, 1959).

Sous la membrane cellulaire (fig. 21, Pl. X, fig. 37-39; Pl. IX, fig. 36; Pl. XI, fig. 49) dont elle est séparée par une zone plus claire de

200 à 250 Å d'épaisseur, une strate hétérogène, granulo-fibrillaire, de 100 à 150 Å directement en contact avec le cytoplasme sous-jacent, enveloppe totalement la cellule.

Dans le tiers antérieur de la cellule de *S. tenella*, sur sa partie convexe (Pl. X, fig. 37; fig. 23; fig. 27f), et dans la partie moyenne de celle de *T. gondii* (Pl. XI, fig. 49; fig. 24, fig. 28 e), la membrane cellulaire s'invagine brusquement dans le cytoplasme, formant ainsi une sorte d'excavation de 0,16 μ à 0,20 μ de diamètre d'ouverture sur 0,20 à 0,30 μ de profondeur, appelée micropyle et correspondant au granule argentophile obtenu par imprégnation argentine selon la méthode de BODIAN au protargol (1937a et b) (fig. 22).

Il apparaît à ce niveau un ensemble de modifications ultrastructurales importantes permettant de supposer un rôle essentiel à cet organite pariétal (fig. 21). Les deux lames m1 et m2 de la membrane unitaire (M) deviennent à peu près identiques par perte du contraste de la lame externe (m1). A l'intérieur du micropyle

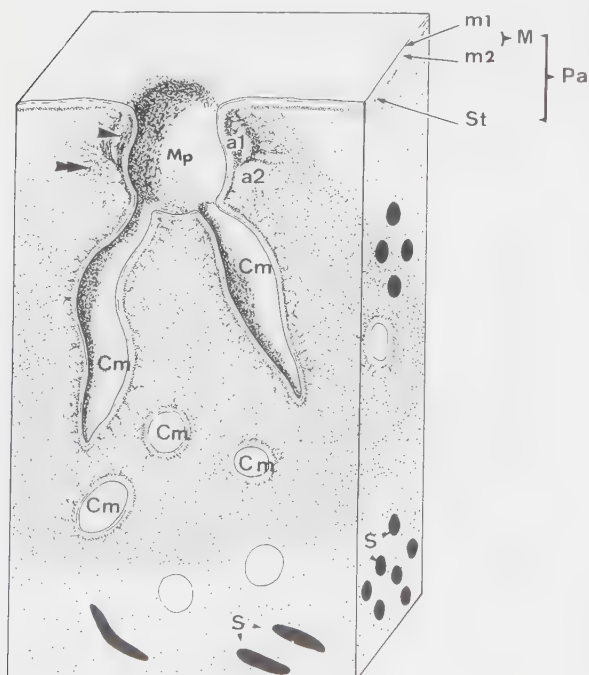


FIG. 21. — Vue diagrammatique de la région du micropyle des *Toxoplasmea* d'après nos observations au microscope électronique. Les deux anneaux (a1 et a2) reliés par des microfibrilles (flèche) et ancrés dans le cytoplasme (double flèche) entourent le micropyle (Mp) qui se prolonge par des canaux (Cm).

M : membrane unitaire; m1 et m2 : feuillets de la membrane unitaire; Pa : paroi de la cellule; S : sarconèmes; St : strate sous-pelliculaire. $\times 45\,000$.



FIG. 22. — Coupe sagittale d'un endodyocyte de *Sarcocystis tenella* imprégné à l'argent, selon la méthode de Bodian.

D : granules deutoplasmiques; Mp : emplacement du micropyle; Mu : mucron antérieur; N : noyau; n : nucléole; Rh : rhoptries. $\times 6000$.

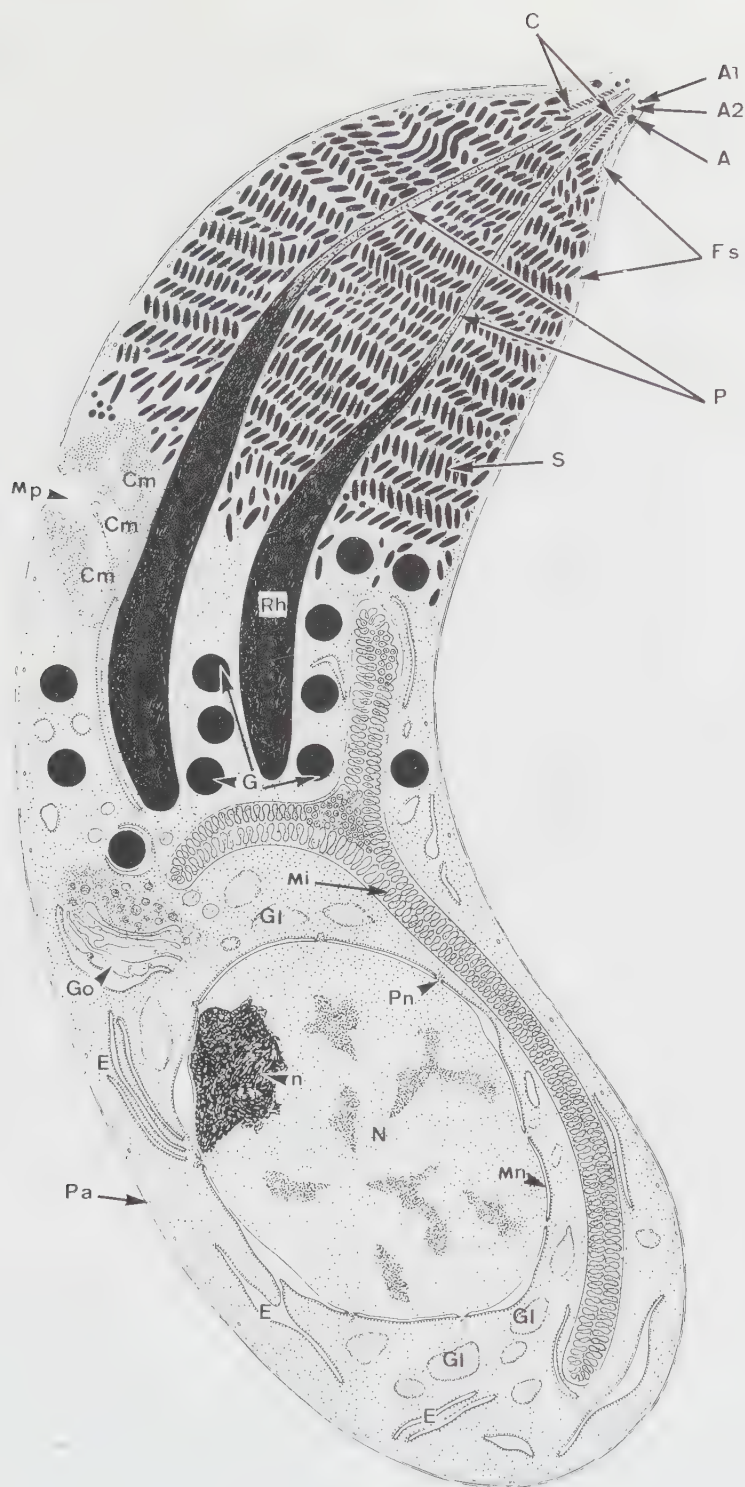


FIG. 23. — Interprétation schématique des ultrastructures de l'endodyocyte de *Sarcocystis tenella*.

A : anneau d'où partent les 22 fibres sous-pelliculaires; A1 et A2 : anneaux surmontant le conoïde; C : conoïde; Cm : canaux du micropyle; E : *reticulum* endoplasmatique; Fs : fibres sous-pelliculaires; G : globules lipidiques; Gl : paraglycogène; Go : Golgi; Mi : mitochondrie; Mn : membrane nucléaire; Mp : micropyle; N : noyau; n : nucléole; P : pédoncules des rhoptries; Pa : paroi cellulaire; Pn : pores nucléaires; Rh : rhoptries; S : sarcosomes. $\times 21\ 000$.

dans la région proche de l'ouverture, la lame interne (m2) est doublée d'un épaissement (a1) la faisant parfois paraître elle-même double. En outre, la strate granulo-fibrillaire de la paroi s'épaissit, en un deuxième anneau (a2) concentrique au précédent, très net sur les coupes transversales et sagittales du micropyle (Pl. XI, fig. 44-49). Sur les coupes transversales (Pl. XI, fig. 46-50), on remarque que les deux anneaux (a1 et a2) sont reliés l'un à l'autre par des microfibrilles, l'anneau externe étant lui-même comme ancré dans le cytoplasme par d'autres éléments microfibrillaires, l'ensemble donnant au pourtour de l'orifice un aspect rayonné. La strate granulo-fibrillaire se poursuit d'ailleurs mais très atténuée, sur le fond de la cupule et le long de ses prolongements (Pl. XI, fig. 44-47). En effet, le micropyle se prolonge en des canicules plus ou moins divergents de 600 à 800 Å de diamètre, sinueux et pénétrant profondément dans une zone de hyaloplasme généralement plus dense que le reste du cytoplasme (Pl. XI, fig. 44-45 et fig. 21). La paroi de ces canaux est constituée d'une membrane unitaire de 80 Å d'épaisseur environ en parfaite continuité avec la membrane cellulaire elle-même. Il est très difficile de voir où aboutissent ces canaux dans le cytoplasme. Peut-être ont-ils des relations avec le *reticulum* endoplasmique ? Cependant, la complexité de cet organite nous amène à réviser la conception un peu simpliste que l'on avait pu s'en faire. Certains auteurs, en effet, tels GARNHAM et ses coll. (1961b) voient dans le micropyle un simple orifice de sortie d'un sporoplasme. En fait, on peut plus vraisemblablement supposer que par l'intermédiaire du micropyle s'effectuent des échanges entre la cellule elle-même et le milieu, dont il est difficile de préciser le sens car nos expériences avec les sels de thorium, ou d'or n'ont pas donné de résultat.

b) La région apicale :

Un organite en forme de tronc de cône : le conoïde, occupe toute cette région (fig. 23, 24, 25; Pl. X, fig. 37; Pl. XV, fig. 71-74). De configuration très régulière, mesurant 0,28 µ de diamètre à la base, 0,16 µ de diamètre au sommet pour une hauteur de 0,32 µ, chez *S. tenella* (Pl. XII, fig. 51), il est de dimensions un peu plus modeste chez *T. gondii* (Pl. XII, fig. 54).

Sa disposition à l'intérieur du mucron est constante ; le grand axe du tronc de cône est toujours dirigé selon celui de la cellule, et sa petite ouverture tournée vers l'avant. La zone de cet organite qui se colore très violemment par la fuchsine d'Altmann, est très réfringente sur le vivant. Son ultrastructure apparaît très nettement hétérogène bien que nous n'y retrouvions pas l'arrangement en deux cônes emboîtés décrit par LUDVIK (1956) chez *S. tenella*. En fait, dans les deux cas, chez *Sarcocystis* et chez *Toxoplasma*, sur les coupes tangentielles (Pl. XII, fig. 52-55), le conoïde se présente très régulièrement strié par des lignes sombres alternant avec des zones plus claires et disposées, non pas selon les génératrices du tronc de cône mais plutôt obliquement en une spire tournant dans le sens des aiguilles d'une montre lorsque l'on regarde la cellule par son pôle apical. La striation d'un tel organite a été relevée chez d'autres Protozoaires. Mais au lieu d'être oblique, elle est transversale dans le cas de l'*Eimeriidae* : *Lankesterella garnhami* (GARNHAM et coll., 1962b). Dans le cas des *Toxoplasmea*, on peut remarquer que cette inclinaison est variable, en même temps que la hauteur du conoïde l'est également. Lorsque les striations sont redressées, la hauteur du conoïde atteint son maximum et paraît ainsi plus effilé. On peut alors supposer que cette hétérogénéité serait à la base des processus de modification morphologique du conoïde.

Tout au long d'une génératrice du tronc de cône, on compte environ 8 unités osmiophiles de 200 Å de large et autant d'espaces plus clairs de 200 Å plus ou moins reliés entre eux (Pl. XII, fig. 52). Cette hétérogénéité se retrouve sur les coupes sagittales et transversales du conoïde où l'épaisseur de la paroi est de 250 à 300 Å (Pl. XII, fig. 51, 53, 57, 58). Il est souvent bordé du côté externe par une sorte de chevelu microfibrillaire le reliant apparemment à la strate sous-membranaire qui est épaissie à ce niveau (Pl. XII, fig. 56-58; Pl. XIII, fig. 59-60). Le conoïde, organite modifiable, ancré dans le cytoplasme sous-jacent au moyen de structures fibrillaires pourrait perforer la paroi de la cellule, permettant le contact de substance lytique avec la membrane de la cellule hôte. En effet, contrairement à ce que pense LUDVIK, nous ne croyons pas que l'extrémité apicale de la cellule

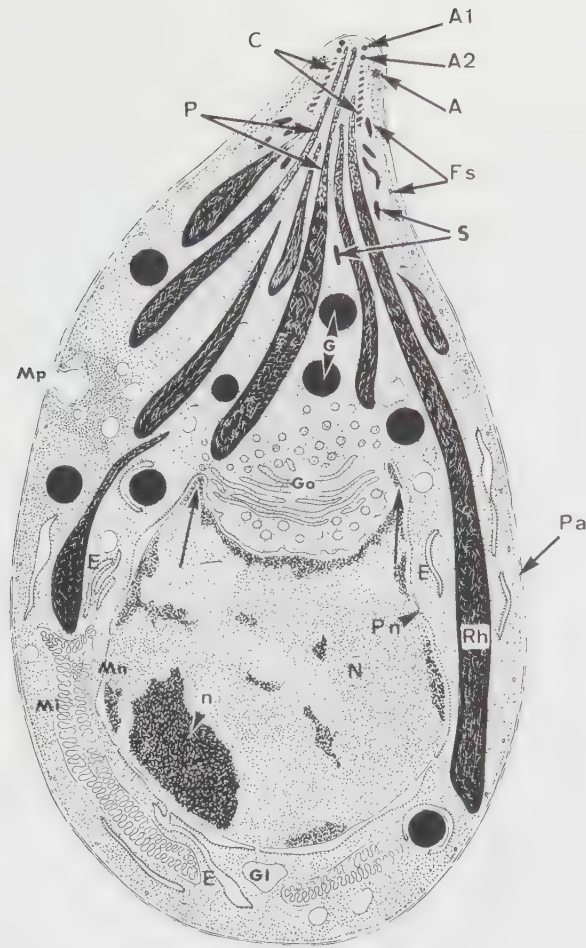


FIG. 24. — Interprétation schématique des ultrastructures de l'endodyocyte de *Toxoplasma gondii*. Noter les nombreuses rhoptries (Rh) et l'appareil de Golgi (Go) situé dans une cupule (flèches) du noyau (N).

A : anneau d'où partent 22 fibres sous-pelliculaires; A1 et A2 : anneaux surmontant le conoïde; C : conoïde; E : *reticulum* endoplasmique; Fs : fibres sous-pelliculaires; G : globules lipidiques; Gl : plage de paraglycogène; Mi : mitochondrie; Mn : membrane nucléaire; Mp : micropyle; n : nucléole; P : pédoncule de rhoptrie; Pa : paroi cellulaire; Pn : pores nucléaires; S : sarconèmes. $\times 22\,500$.

soit directement en communication avec le milieu extérieur. Les microphotographies montrent en effet que la membrane cellulaire existe toujours à ce niveau (Pl. X, fig. 37; Pl. XII, fig. 53). Par contre, la strate sous-pelliculaire granulo-fibrillaire s'interrompt de part et d'autre du sommet du conoïde qui est très souvent surmonté d'un ou de deux anneaux (A1 et A2) apparaissant en coupes sagittales comme deux paires de granules surplombant les baguettes divergentes représentant le conoïde (Pl. XII, fig. 51, 53, 54, 55 et fig. 23, 24, 25, 26).

Ce dernier peut avoir deux positions extrê-

mes : soit en saillie et l'apex de la cellule le recouvre alors, en un mucron bien marqué (fig. 26a et Pl. XII, fig. 54) soit enfoncé dans le cytoplasme (fig. 26b et Pl. XII, fig. 53). Dans le premier cas, l'anneau de départ (A) des fibres sous-pelliculaires est situé à la base du conoïde, dans l'autre cas à son sommet.

Disposée concentriquement et extérieurement à cet organite se trouve en plus une structure annulaire de $0,40\ \mu$ à $0,50\ \mu$ de diamètre (fig. 25, fig. 27b, fig. 28b, Pl. XII, fig. 56-58). Cet anneau osmiophile est constant et il est plus ou moins rattaché au conoïde par des microfibril-

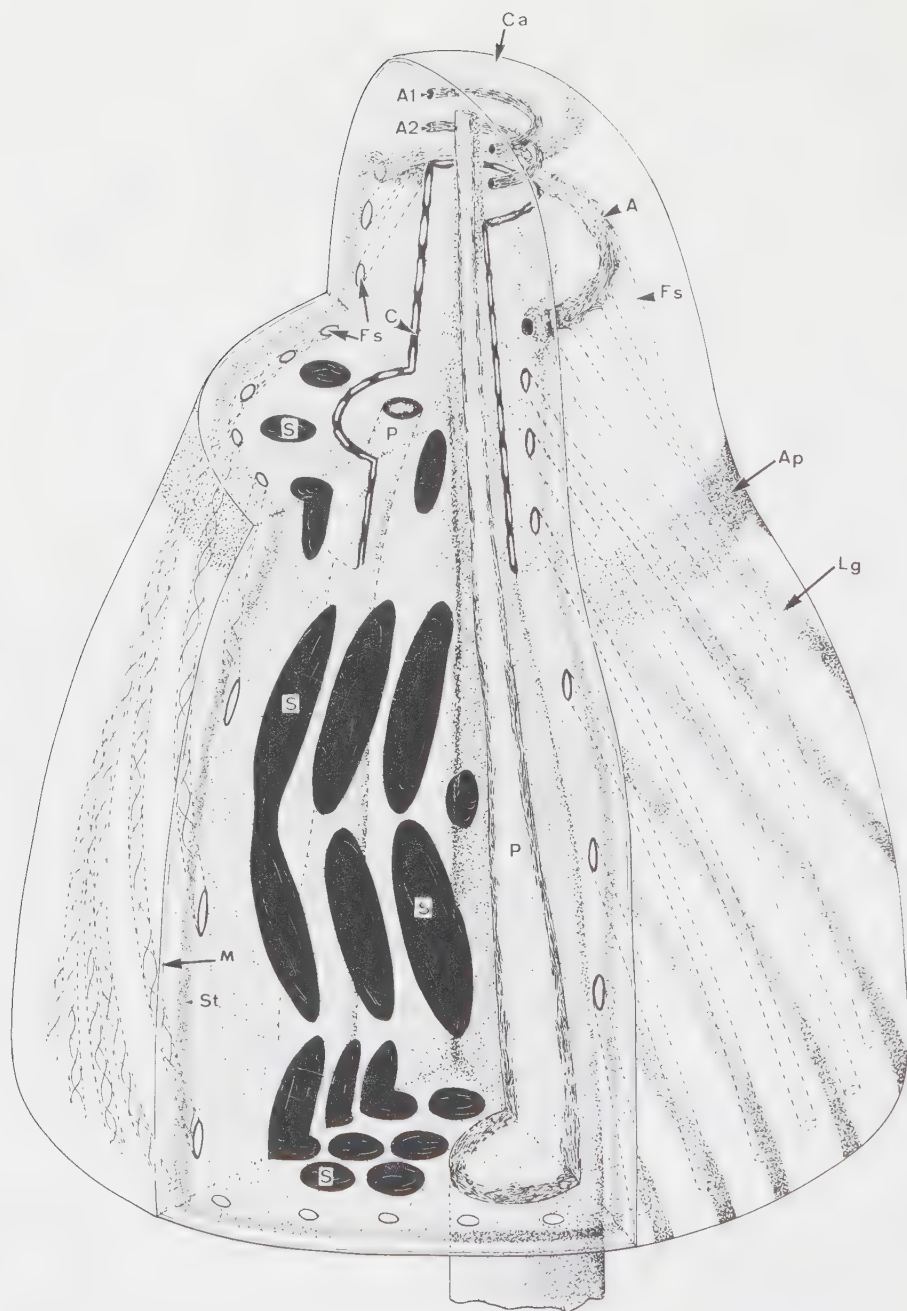


FIG. 25. — Vue diagrammatique de la région du mucron de *Sarcocystis tenella* d'après nos observations au microscope électronique.

A : anneau d'où partent 22 fibres sous-pelliculaires; A1, A2 : anneaux surmontant le conoïde; Ap : anneau polaire argyrophile; C : conoïde; Ca : corpuscule apical argyrophile; Fs : fibres sous-pelliculaires; Lg : lignes longitudinales argyrophiles; M : membrane unitaire; P : pédoncule des rhoptries; S : sarconèmes; St : strate sous-pelliculaire. $\times 135\ 000$.

les, ce qui lui donne en coupe transversale, un aspect régulièrement rayonné (Pl. XII; fig. 56-58). Il en part 22 fibres longitudinales directe-

ment situées sous la strate granulo-fibrillaire (Pl. XII, fig. 56, 57, 58; Pl. XIII, fig. 59, 60, 61, 62). Elles parcourent sans interruption en spi-

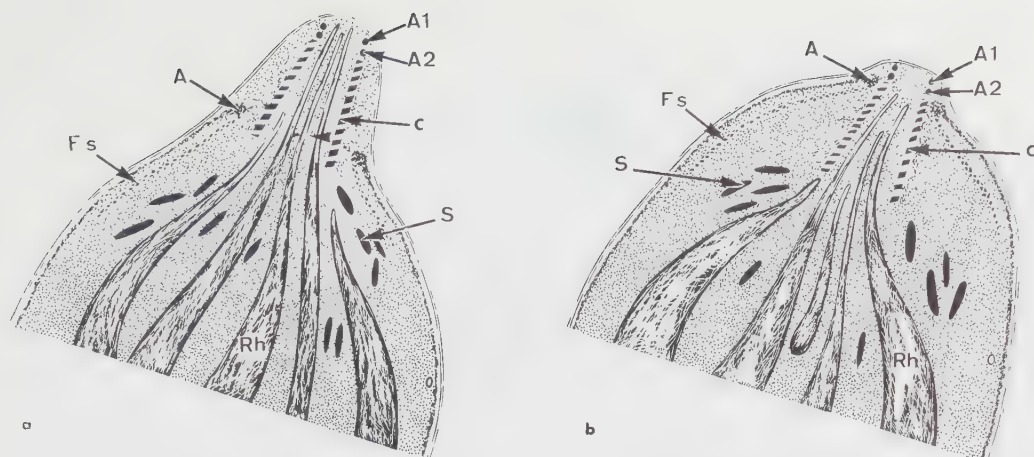


FIG. 26. — *Toxoplasma gondii* : vue schématique de deux aspects de la région apicale des endodocytes.
a) L'anneau (A) est situé à la base du conoïde (C) lui-même logé dans un mucron net, et traversé par les pédoncules (flèche) des rhoptries (Rh).
b) L'anneau (A) est situé au sommet du conoïde (C) qui est enfoncé dans le cytoplasme de la cellule.
A1, A2 : anneaux surmontant le conoïde; Fs : fibres sous-pelliculaires : S : sarconèmes. $\times 25\,000$.

res régulières toute la longueur de la cellule (Pl. X, fig. 38). Ce sont des tubules de 200 à 300 Å de diamètre (fig. 27, 28) dont le cortex, de 30 à 40 Å d'épaisseur, limite une lumière de 100 à 120 Å de diamètre (Pl. X, fig. 41). A l'édification de chacune d'elles participent au moins deux unités fibrillaires formant l'armature du cortex (Pl. X, fig. 43). Ces deux fibrilles unitaires sont disposées en enroulement régulier mais antagoniste l'une de l'autre comme nous l'avions signalé chez *S. tenella* (SÉNAUD et de PUYTORAC, 1962). Cette ultrastructure donne à croire à une intervention de ces fibres dans les mouvements de torsion et de flexion de la cellule. Il n'y a en outre, aucune concordance entre le nombre des fibres sous-pelliculaires (22) et celui des lignes longitudinales argyrophiles (12) (fig. 20).

c) *Les rhoptries (= organelles ou toxonèmes) :*

Dans le tiers antérieur de la cellule, des organites en forme de boudins plus ou moins allongés serpentent dans le cytoplasme et se groupent en passant à travers le conoïde, pour aboutir ainsi directement à l'extrémité même de la cellule (fig. 23, 24, 25, 26, et, Pl. XIII, fig. 59, 60). Ces rhoptries sont très nombreuses chez *Toxoplasma* où elles sont disposées en un faisceau (Pl. XIV, fig. 65). Longtemps méconnues

chez *Sarcocystis* elles sont, en fait, non pas difficiles à voir mais difficiles à différencier : leurs pédoncules se distinguent mal dans l'ensemble des autres structures en forme de navette qui occupent tout le tiers antérieur, bien qu'ils aient une structure parfois différente et qu'ils soient généralement plus contrastés (Pl. XIII, fig. 63). D'autre part, les rhoptries peuvent être facilement confondues, en coupe transversale, avec certains granules très osmiophiles essentiellement lipidiques. Tant chez *Sarcocystis* que chez *Toxoplasma*, leur nombre, très variable selon les cellules, est en général voisin de 4 chez *Sarcocystis* et de 8 chez *Toxoplasma*. Elles mesurent de 0,3 à 0,5 μ de diamètre. Leur longueur peut atteindre 7 μ et plus, puisque dans le cas de *Sarcocystis*, on les retrouve souvent en coupe dans la région nucléaire. Parfois elles sont d'un égal diamètre d'un bout à l'autre (800 à 1 200 Å), parfois elles sont renflées en massue à leur portion postérieure (d'où le nom de rhoptrie, SÉNAUD, 1965) atteignant alors 0,4 μ de diamètre (Pl. XIII, fig. 63; Pl. XIV, fig. 65). Dans le premier cas, elles semblent limitées par un cortex mal défini limitant une lumière peu dense (Pl. XIV, fig. 64) qui se prolonge dans les pédoncules traversant le conoïde (Pl. XII, fig. 56). Dans le second cas, elles ont un aspect spongio-réticulé dense (Pl. XIV, fig. 65).

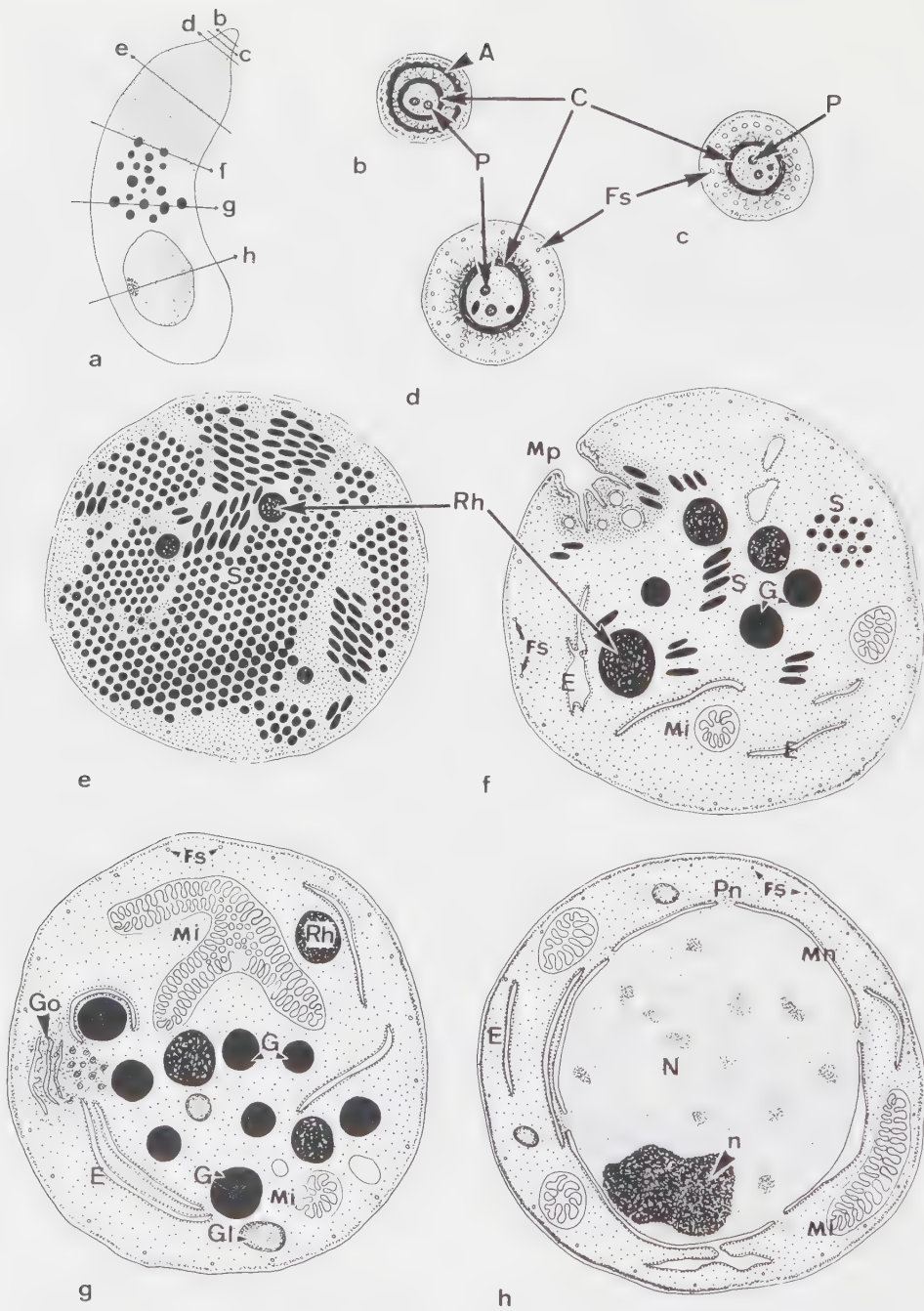


FIG. 27. — *Sarcocystis tenella* : a) Localisation des diverses sections transversales dans l'endodyocyte; b) Coupe extrême apicale; c, d) Coupes moyenne et postérieure du conoïde; e) Zone du tiers antérieur; f) Zone postérieure du tiers antérieur; g) Tiers moyen de la cellule; h) Région nucléaire.
 A : anneau d'où partent les fibres sous-pelliculaires; C : conoïde; E : *reticulum* endoplasmique; Fs : fibres sous-pelliculaires; G : granules lipidiques; Gl : paraglycogène; Go : appareil de Golgi; Mi : mitochondrie; Mn : membrane nucléaire; Mp : micropyle; N : noyau; n : nucléole; P : pédoncules des rhotries; Pn : pores nucléaires; Rh : rhotries; S : sarconèmes. $\times 15\ 000$.

Ces différents aspects laissent supposer la possibilité de l'élaboration progressive d'une sécrétion qui pourrait être éliminée au moment de l'effraction de la cellule dans les tissus de l'hôte où lors de l'action défectueuse des agents fixateurs, et qui expliquerait peut-être, les images de « filaments dévaginés » décrites par L'AVERAN et MESNIL (1899a).

d) *Les sarconèmes ou convoluted tubes.*

Les termes de sarconème, de toxonème, de convoluted tube, de lankesterellonème, de paire d'organelles sont considérés souvent comme synonymes, alors qu'ils peuvent désigner des organites différents, ce qui crée actuellement une grande confusion dans la nomenclature. SCHOLTYSECK et PIEKARSKI (1965) séparent les toxonèmes des organelles et semblent ainsi en faire l'équivalent des sarconèmes, alors que GARNHAM dès 1963 sépare entièrement les toxonèmes des sarconèmes. Comme nous l'avons dit, tous ces termes prêtent à ambiguïté. Il est bien évident que, d'après la configuration des mots, toxonème, lankesterellonème et sarconème devraient désigner des organites homologues. Or, il n'en est rien. C'est pourquoi, nous préférons pour les structures analogues (toxonèmes, paires d'organelles) le terme de rhoptrie.

Les sarconèmes sont des organites très différents des rhoptries. Ils ne se présentent pas de façon identique chez *Sarcocystis* et chez *Toxoplasma*.

Dans le cas de *Sarcocystis* (fig. 23, 27e) on est frappé par l'abondance d'éléments très osmiophiles occupant tout le tiers antérieur de la cellule (Pl. X, fig. 37). Ils apparaissent en coupe transversale, sous forme de petites masses circulaires de 500 à 600 Å de diamètre (Pl. X, fig. 40) et en coupe longitudinale sous forme de navettes régulières (Pl. X, fig. 37). L'étude de nombreuses coupes montre qu'il s'agit en réalité d'organites cylindriques, continus, disposés en rideaux plissés mais dans des plans différents, les rideaux eux-mêmes étant juxtaposés parallèlement les uns aux autres.

Sur certains clichés, on remarque des tractus reliant les sarconèmes entre eux (Pl. X, fig. 42). Dans la région la plus antérieure de la cellule et à l'intérieur du conoïde (Pl. XIII, fig. 59, 61) les sarconèmes sont peu nombreux alors

que dans la région moyenne et postérieure du tiers antérieur, on peut en compter jusqu'à 500 environ (fig. 27e).

Nous pensons, en outre, que la grande abondance de ces sarconèmes chez *Sarcocystis* est responsable de l'intense colorabilité de cette zone par les colorants classiques de la microscopie optique (Hématoxyline de REGAUD ; fuch-sine d'ALTMANN; violet cristal; vert rapide) (fig. 29e, j, k, l).

L'ensemble des sarconèmes se termine brusquement dans la région moyenne qui est occupée par de très gros granules osmiophiles ou grains moyens (Pl. X, fig. 37).

Il est difficile d'assurer le rôle des Sarconèmes très nombreux chez *Sarcocystis*, beaucoup plus discrets dans le cas de *Toxoplasma* où ils n'existent que sous forme de quelques éléments disséminés dans le quart antérieur de la cellule autour de la base du conoïde (fig. 24, 28d, Pl. XII, fig. 53-54; Pl. XIII, fig. 62).

e) *Les grains moyens :*

Dans le tiers moyen de la cellule de *S. tenella* (fig. 15, fig. 23, fig. 27f, g) dans la région immédiatement supérieure au noyau chez *Toxoplasma* où ils sont peu abondants (fig. 24, fig. 28e), sont disséminés dans le cytoplasme des globules très osmiophiles (Pl. X, fig. 37; Pl. XIV, fig. 68; Pl. XV, fig. 74 et fig. 29a) qui se colorent à la fois par différentes substances caractéristiques des protéines (bleu de bromophénol mercurique, vert rapide, fig. 29j) ou des lipides (noir cérol, sulfate de bleu de nil, fig. 29f, g). En outre le test de SCHULTZ y met en évidence des stérols (fig. 29i) tandis que la réaction à l'O₂ Schiff (LISON, 1960) y révèle la présence de lipides non saturés (fig. 29h). Il semble donc que ces granules sont essentiellement constitués de lipides complexes associés à des protéines tenant lieu de substrat.

Ces granules sont toujours présents dans les cellules en intercinèse où ils apparaissent au microscope électronique, sous forme de sphères de 2 000 à 5 000 Å de diamètre, dont le centre parfois plus clair (Pl. X, fig. 37; Pl. XV, fig. 74), moins chargé de substance, suggère l'existence d'une trame résiduelle (Pl. XIV, fig. 68). Ils ne sont pas limités par une membrane unitaire.

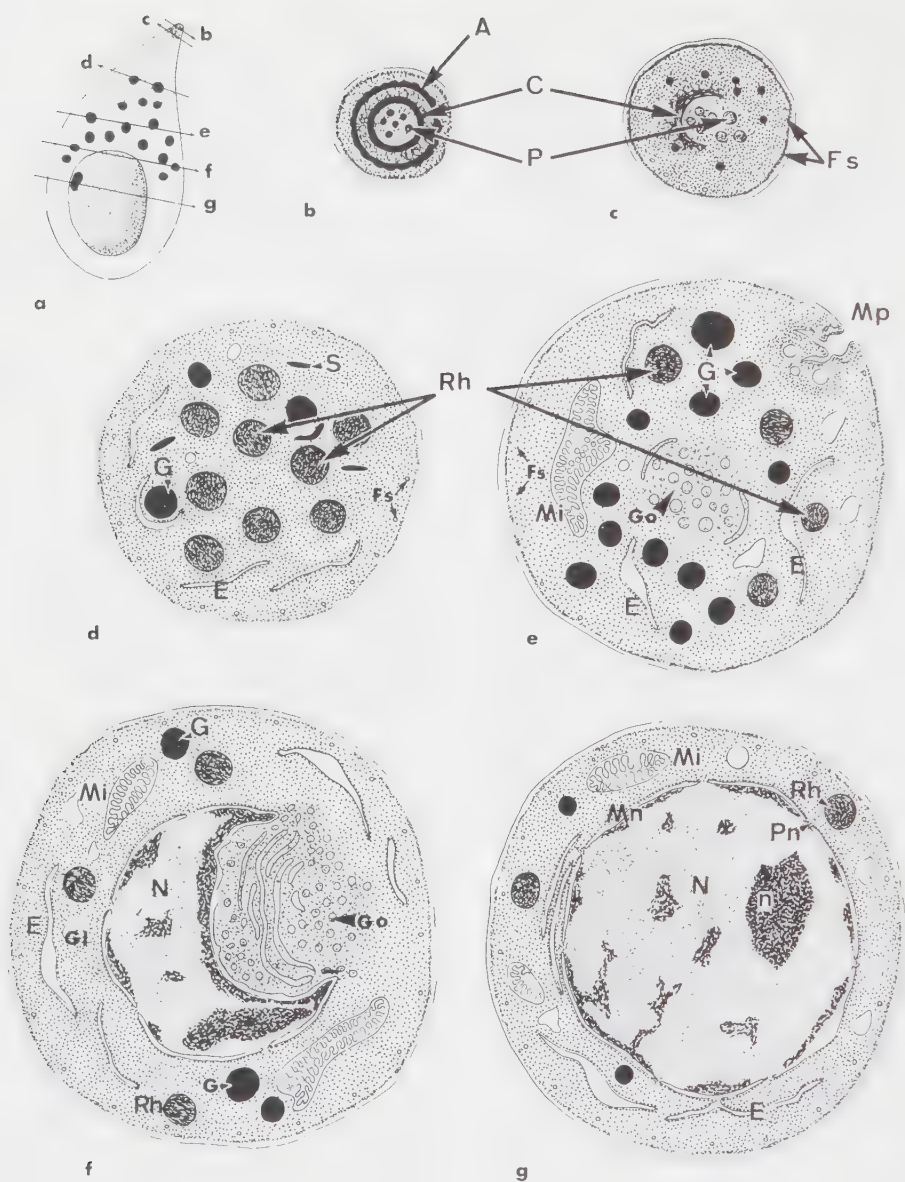


FIG. 28. — *Toxoplasma gondii* : a) Localisation des diverses sections transversales dans l'endodyocyte; b) Coupe extrême apicale; c) Coupe postérieure du conoïde; d, e) La région moyenne de la cellule; f) Coupe au niveau de l'appareil de Golgi; g) Région nucléaire.

A : anneau d'où partent les fibres sous-pelliculaires; C : conoïde; E : *reticulum* endoplasmique; Fs : fibres sous-pelliculaires; G : granules lipidiques; Gl : paraglycogène; Go : appareil de Golgi; Mi : mitochondries; Mn : membrane nucléaire; Mp : micropyle; N : noyau; n : nucléole; P : pédoncules des rhoptries; Pn : pores nucléaires; Rh : rhoptries; S : sarconèmes. $\times 15\,000$.

f) Les plages APS positives :

Dans le tiers moyen des endodyocytes, mêlées aux granules lipidiques, des plages homogènes au microscope électronique (Pl. XV, fig. 71,

72, 73) nettement positives après les réactions par l'APS et de BAUER (fig. 29b, 29d) deviennent négatives si on fait agir au préalable la pytaline salivaire en milieu maintenu à 37°

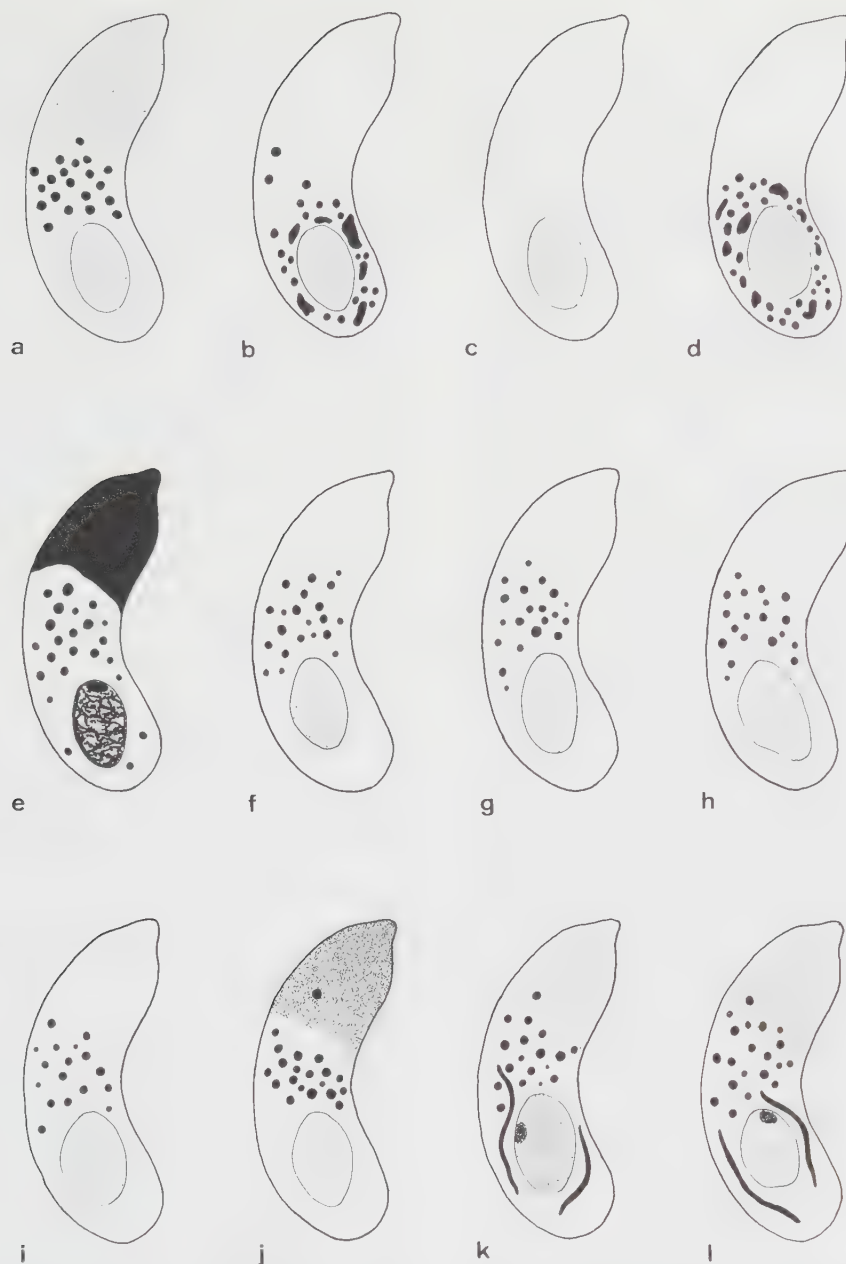


FIG. 29. — *Sarcocystis tenella* : représentation schématique de l'endodyocyte après diverses colorations et réactions cytochimiques. a) Imprégnation par le tétr oxyde d'osmium; b) APS; c) APS après action de la ptyaline salivaire; d) Méthode de Bauer; e) Hématoxyline de Regaud; f) Noir cérol; g) Sulfate de bleu de Nil; h) 02 Schiff; i) Test de Schultz; j) Vert rapide; k) Coloration d'Altmann; l) Méthode de Benda et Meves. $\times 3600$.

(fig. 29c). Il s'agit, comme dans le cas des métrocytes, d'amylopectine généralement en moindre quantité chez *Toxoplasma* que chez *Sarcocystis*.

g) Le chondriome :

Que ce soit chez les *Toxoplasmes* ou chez les

Sarcosporidies, aucun des anciens auteurs n'ont signalé la présence d'organites susceptibles de représenter la chondriome. Nous avons pu le mettre en évidence chez *S. tenella* au microscope optique par les méthodes d'ALTMANN et de BENDA MEVES. Il apparaît alors essentiellement

constitué de filaments longeant habituellement la membrane cellulaire, plus ou moins accolés au noyau et parcourant ainsi la moitié de la cellule (fig. 30). Sur coupes ultrafines (fig. 23, Pl. XIV, fig. 68, Pl. XV, fig. 72), il se présente comme un tube sinueux, de diamètre variable (0,2 à 0,4 μ) pluriramifié, élargi localement en des dilatations plus ou moins importantes (0,8 à 1 μ).

Par contre, chez *Toxoplasma*, il y a plusieurs mitochondries de taille plus réduite et en forme de petits bâtonnets (fig. 24, Pl. XV, fig. 71).

Quoiqu'il en soit la structure fine des mitochondries est analogue (Pl. XIV, fig. 68).

Chaque mitochondrie est limitée par un feuillet externe lisse quelquefois doublé extérieurement d'un saccule ergastoplasmique étroitement accolé et garni de grains RNP. Le feuillet interne séparé du précédent par une zone plus claire de 30 à 40 Å est au contraire très tourmenté et il se réfléchit intérieurement en nombreuses villosités grossièrement claviformes, pédiculées, de 100 Å à la base et de 150 à 300 Å de diamètre (Pl. XIV, fig. 68). Leur hauteur varie de 1 000 à 1 500 Å. Elles s'affrontent de façon assez régulière selon l'axe longitudinal du tube mitochondrial, simulant souvent un cloisonnement transversal. Il résulte de cette contiguïté des microvillosités que la région axiale mito-

chondriale est presque entièrement occupée par les digitations de la lame interne.

Sur les coupes transversales (Pl. XV, fig. 72) on remarque l'existence, au centre de chaque villosité, d'un granule qui correspond à une structure en bâtonnet sur les coupes longitudinales. Durant la division, le chondriome se fragmente en des éléments plus petits, disséminés dans le cytoplasme de la cellule mère et dans celui des deux cellules filles.

h) Le reticulum endoplasmique :

Il est constitué d'un ensemble plus ou moins complexe de saccules et de vésicules de 800 à 1 500 Å de diamètre dont la paroi est revêtue de nombreux grains de PALADE (fig. 23, 24, Pl. XIV, fig. 66). Il s'accole souvent à la base des rhoptries, enveloppe les mitochondries, les globules lipidiques, le noyau, et coiffe l'appareil de GOLGI (Pl. XIV, fig. 67-68, Pl. XV, fig. 73).

i) L'appareil de Golgi.

Décrit au microscope électronique chez *Toxoplasma* par plusieurs auteurs, il fut longtemps considéré comme faisant totalement défaut chez les Sarcosporidies. En fait il existe bien dans les deux cas et seule sa localisation à l'intérieur de la cellule est différente.

Chez *Sarcocystis* (fig. 23, 27g), il s'agit probablement d'un seul dictyosome situé dans la région moyenne de la cellule, proche du noyau, qui n'est pas modifié dans son voisinage. Il est composé d'un empilement assez régulier de quelques saccules, doublé d'une lame ergastoplasmique, de longueur décroissante (1,5 à 0,4) et apparaissent en coupe transversale plus ou moins courbés (Pl. XV, fig. 73), et libérant des petites vésicules qui forment un nuage dense qui se répand dans le hyaloplasme au fur et à mesure que l'on s'éloigne du dictyosome. Chez *Toxoplasma* (fig. 24, 28e, f), la morphologie du dictyosome est grossièrement la même mais le volume relatif de ce dernier est beaucoup plus important par rapport à celui de la cellule. Le Golgi est constitué d'un seul dictyosome de 1,5 μ environ de dimension, situé dans une cupule formée par le noyau, auquel il est intimement accolé (Pl. XV, fig. 74). Entre la membrane nucléaire et les saccules golgiens peuvent exister quelques petites vésicules qui semblent

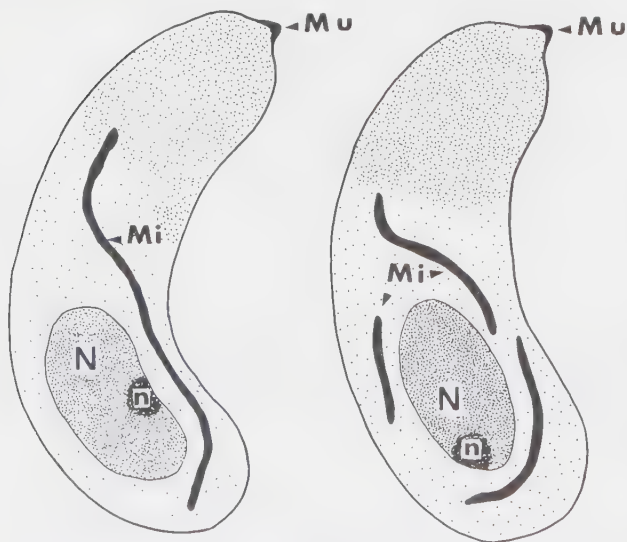


FIG. 30. — Le chondriome (Mi) de l'endodyocyte de *Sarcocystis tenella* au microscope photonique. Mu : mucron; N : noyau; n : nucléole. $\times 4800$.

se détacher de la membrane nucléaire (Pl. XV, fig. 74) et analogues à celles qui sont présentes entre le saccule ergastoplasmique et le dictyosome chez *S. tenella* (Pl. XV, fig. 73).

j) *Les vacuoles.*

Elles ont été signalées par LUDVIK (1958) chez *S. tenella* et par SCHOLTYSECK et PIEKARSKI (1965) chez *T. gondii*. Il est très difficile de dire si les quelques structures d'aspect vacuolaire ainsi observées ne sont pas des globules de paraglycogène ou des vésicules ergastoplasmiques. Nous rappelons cependant la présence de vésicules de taille variables situées dans la région du micropyle et circonscrites le plus souvent par une membrane unitaire.

k) *Le noyau.*

ALEXÉIEFF (1913) distingue dans le noyau de *Sarcocystis* un gros caryosome et une substance nucléaire hétérogène comportant des amas irréguliers colorables à l'hématoxyline et matérialisant la chromatine qui apparaît en rouge après coloration au MAY-GRÜNWARD (BABUDIÉRI, 1932). La réaction de FEULGEN fait ressortir un *reticulum* faiblement positif (LUDVIK, 1958). Chez *Toxoplasma*, le noyau très réfringent et postérieur aurait une structure à peu près analogue avec un caryosome central (DOBY, 1951).

Sur le vivant, que ce soit chez *Sarcocystis* ou chez *Toxoplasma*, le noyau a toujours un

aspect vacuolaire (fig. 14 et 15). Situé très postérieurement chez *Sarcocystis*, il est plutôt central chez *Toxoplasma*. Grossièrement ovoïde, son grand axe généralement dirigé selon celui de la cellule, il occupe presque toute la largeur de celle-ci et son diamètre transversal varie de 3 à 5 μ chez *Sarcocystis* et de 2 à 4 μ chez *Toxoplasma*. La microscopie électronique apporte quelques précisions.

Si le noyau est réellement et régulièrement ovoïde dans le cas de *Sarcocystis* (fig. 23, fig. 27h), il est creusé en une cupule profonde (1 μ) contenant l'appareil de Golgi chez *Toxoplasma* (fig. 24, fig. 28 f, g et Pl. XV, fig. 74).

Le noyau est enveloppé d'une membrane nucléaire nette, double, constituée de deux feuillets apparaissant sur les coupes normales à la surface du noyau, sous forme de deux lignes sombres très osmiophiles, sensiblement parallèles, séparées par une zone claire de 100 Å environ d'épaisseur (Pl. XIV, fig. 70). Ces deux feuillets peuvent s'écarter l'un de l'autre formant ainsi des dilatations de l'espace périnucléaire qui peut alors atteindre de 200 à 350 Å. On ne remarque aucune structure figurée dans ces espaces périnucléaires.

Contrairement à ce que signalent certains auteurs (AFZELIUS, 1955, HAGUENAU et BERNHARD, 1955) sur d'autres membranes nucléaires, les deux feuillets semblent identiques en épaisseur et en densité. Par contre, le feuillet externe est toujours parsemé de nombreux grains de PALADE. On remarque également que la membrane nucléaire s'évagine par son feuillet externe donnant ainsi naissance à des saccules ergastoplasmiques qui sont libérés dans le cytoplasme.

De place en place, les deux feuillets se rapprochent après s'être légèrement écartés et épaissis, puis ils se raccordent l'un à l'autre ménageant ainsi un pore de 450 Å environ de diamètre (Pl. XIV, fig. 70). Sur certaines images, ces pores semblent obstrués par un amas de substance, interprété par les auteurs, soit comme un diaphragme diffus (WATSON, 1955) soit comme un bouchon (HAGUENAU et BERNHARD, 1955). ANDRÉ et ROUILLER (1956) pensent que ces « barrières ne sont que des portions de la soudure annulaire plus ou moins entamées par la coupe ». Nous adoptons cette dernière interprétation, car certains pores, dont

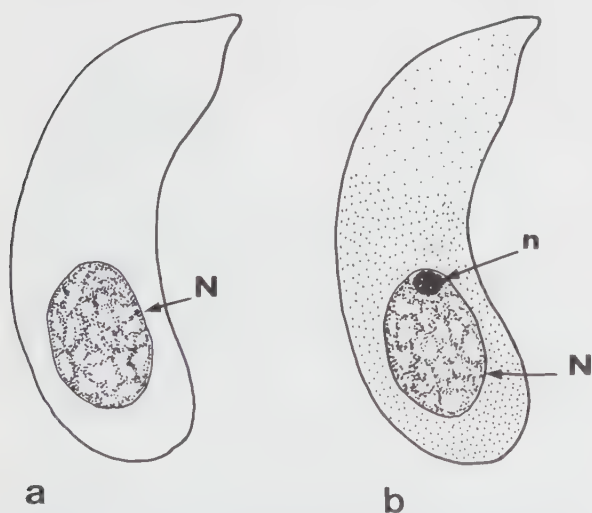


FIG. 31. — Endodyocyte de *Sarcocystis tenella* après la réaction de Feulgen (a) et après la coloration par le vert de méthyle-pyronine.
N : noyau; n : nucléole. $\times 4800$.

la coupe est sagittale, ont un orifice de contour net. Cependant, dans tous les cas, la zone proximale des pores nucléaires apparaît parfois plus dense que le hyaloplasme général. Chaque pore est circonscrit par une sorte de structure annulaire en roue dentée analogue à celle que nous avons décrite précédemment dans les noyaux des métrocytes de *S. tenella* (Pl. XIV, fig. 69). Les pores sont disposés à la surface du noyau en rangées régulières. Ceux d'une rangée alternent en quinconce avec ceux de la rangée adjacente. Ils sont très nombreux : les coupes tangentielles nous ont permis d'en relever 80 à 100 au micron carré : c'est donc environ 5 000 pores qui traversent la membrane nucléaire d'un noyau de 4 μ de diamètre dont la surface est d'environ 50 microns carrés.

L'interprétation de ces anneaux est difficile. Pour certains auteurs, l'anneau est la vue en plan de la soudure des deux feuillets qui forment la membrane nucléaire et qui s'unissent (WATSON, 1954, 1955, 1960) tandis que pour d'autres (AFZELIUS, 1955, WICHNITZER, 1958) c'est l'image d'une marge interne qui vient se surajouter à la soudure des deux feuillets. Or, comme l'ont remarqué ANDRÉ et ROUILIER (1956) dans l'ovocyte de Tégénaire (Aranéide) la marge interne du pore est beaucoup moins contrastée que les anneaux osmiophiles. De plus, le nuage est plus diffus que les anneaux. Le contour des 8 granules est très net. Nous voyons donc dans ces structures granulaires entourant les pores, les images de 8 zones épaissies de la soudure annulaire des deux lames constitutives de la membrane nucléaire.

Quant au granule central visible dans presque tous les anneaux, nous pensons, sans pouvoir l'affirmer qu'il s'agit bien d'un granule unique ou de plusieurs accolés donnant en coupes normales ou obliques de la membrane nucléaire, des images en bâtonnet. La plupart des auteurs ont noté la présence occasionnelle de telles structures; mais, dans le cas de *Sarcocystis* où elles existent toujours, nous doutons qu'elles matérialisent des échanges nucléocytoplasmiques (WATSON, 1954).

Dans la cellule au repos (Pl. XIV, fig. 70; Pl. XV, fig. 74); le matériel nucléaire, généralement clair et assez homogène, contient une ou deux plages nettement plus foncées, situées

presque toujours à la périphérie du noyau : ces nucléoles sont de grande taille (0,6 à 1 % chez *Toxoplasma*; 0,8 à 1,5 μ chez *Sarcocystis*) et irréguliers. La substance nucléolaire est essentiellement constituée de granules opaques très denses, serrés les uns contre les autres, de 110 à 160 Å de diamètre. Le caryoplasme est formé d'un matériau de base assez homogène et finement granuleux, au sein duquel des amas parfois disposés à la périphérie (Pl. XV, fig. 74) sous la membrane nucléaire, représentent la chromatine mise en évidence par la réaction de FEULGEN et par le vert de méthyle-pyronine (fig. 31a, b).

3. La division des endodyocytes :

ALEXÉIEFF (1913), BABUDIÉRI (1932) chez *Sarcocystis*, DOBY (1951) chez *Toxoplasma*, n'ont observé qu'une simple division binaire par fission longitudinale de la cellule initiale. Dès 1958, LUDVIK remarque chez *S. tenella* des processus de division nucléaire nouveaux et caractéristiques (présence de figures nucléaires en U). Dans les « spores » de *Sarcocystis*, où durant longtemps on ne vit qu'une simple scission longitudinale, nous avons pu observer en fait, des phénomènes très différents et beaucoup plus complexes rappelant une sorte de bourgeonnement interne (SÉNAUD, 1963b) analogues à ceux décrits chez les *Toxoplasmes* par GOLDMAN, CARVER et SULZER (1958) puis par GAVIN, WANKO et JACOBS (1962) sous le nom d'« endodyogeny ». LUDVIK (1963a) et nous-mêmes (1963b) en reprenons l'étude qui se trouve ici précisée (fig. 32 et 33).

L'endodyogénèse : la cellule devient plus globuleuse (fig. 32a, b et fig. 33a, b), piriforme chez *Sarcocystis* où les sarconèmes se désorganisent. La région du conoïde n'est pas modifiée. Les inclusions deutoplasmiques se raréfient, le chondriome se morcelle et la membrane nucléaire s'estompe. Le matériel nucléaire prend la forme d'un U dont les deux branches progressent dans la région moyenne de la cellule (fig. 32c, d, e, f, g; Pl. XVI, fig. 75, fig. 33b, c, d, e; Pl. XVIII, fig. 81, 82). En même temps, au début de cette évolution s'est différencié au contact même du matériel nucléaire un organite constitué de deux faisceaux de fibrilles juxtaposés à leur base et dont les extrémités sont occupées

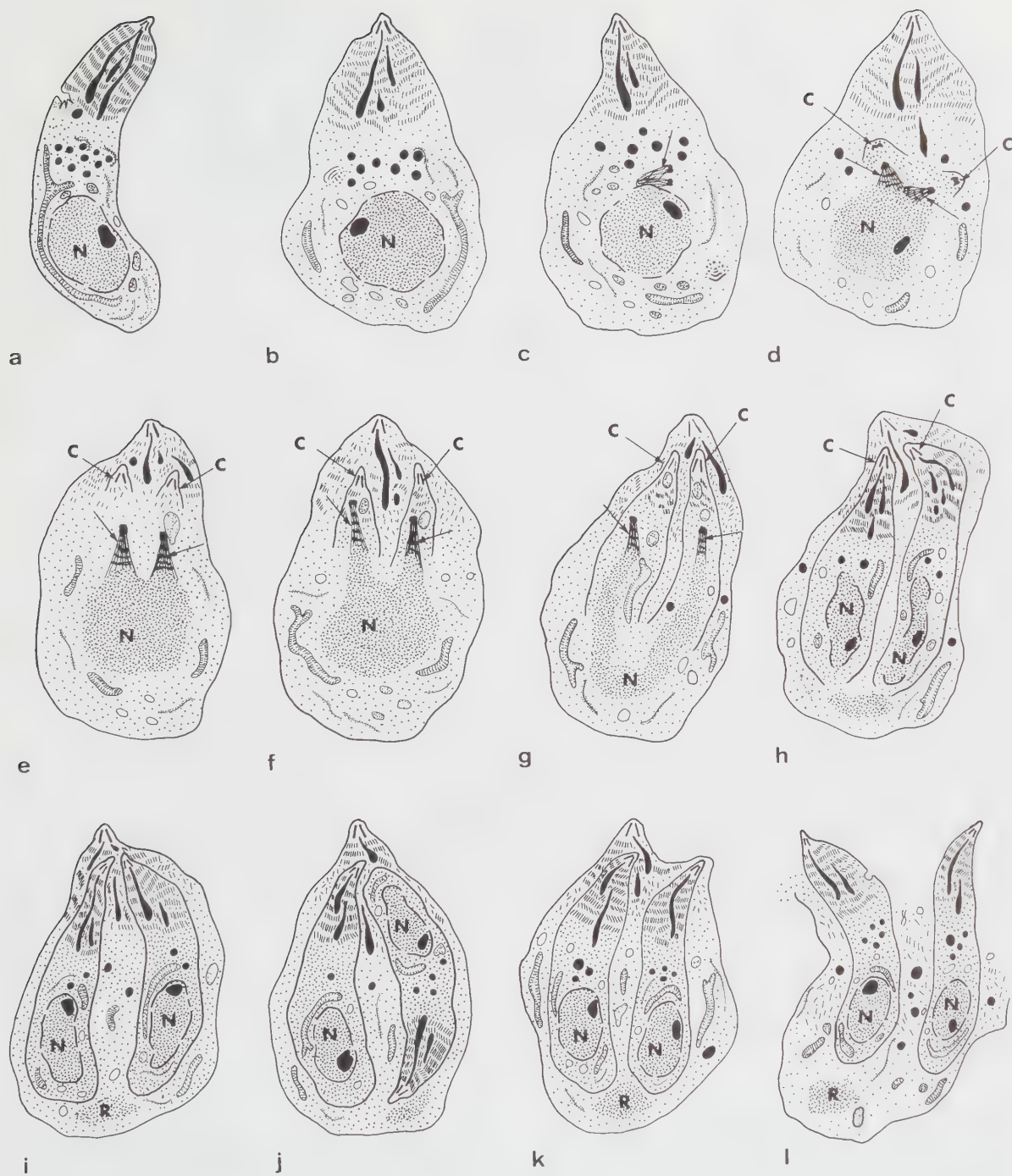


FIG. 32. — Interprétation des phénomènes d'endodyogénèse des endodyocytes de *Sarcocystis tenella*. a) Endodyocyte typique; b, c) Gonflement de la cellule, formation des centrocones (flèches); d, e, f, g, h) formation des complexes apicaux (C) des cellules-filles, division du noyau (N); i, j, k, l) mise en liberté des endodyocytes-fils. R : résidu nucléaire. $\times 4600$.



FIG. 33. — Interprétation des phénomènes d'endodyogénèse des cellules de *Toxoplasma gondii*: a) Toxoplasme typique; b) Formation des centrosônes (flèches); c, d, e, f) division du noyau (N) et formation des complexes apicaux (C); g, h, i) Mise en liberté des endodyocytes-fils.

R : résidu nucléaire. $\times 4000$

par une masse de matériel contrasté (Pl. XVI, fig. 76). Chaque faisceau est formé de fibrilles très serrées de 180 à 200 Å de diamètre et présentant une alternance de zones claires et sombres qui donnent à l'ensemble une structure périodique (Pl. XVI, fig. 77). Ces faisceaux nous paraissent homologues du centrosôme habituellement représenté dans les divisions des

Sporozoaires. Aucune structure de type centrosôme n'a pu y être mise en évidence, néanmoins les deux branches du noyau sont attirées par les deux faisceaux qui s'éloignent l'un de l'autre (fig. 32e, f, Pl. XVI, fig. 75 et fig. 33c, d, e, et Pl. XVIII, fig. 81, 82). En même temps que se déroulent les phénomènes nucléaires s'élaborent, au-dessus des centrosônes, les co-

noïdes, les fibres périphériques des futures cellules filles déjà coiffées d'un capuchon de membrane cellulaire qui s'édifie progressivement vers la partie postérieure de la cellule mère (fig. 32 e, f, g, h; Pl. XVI, fig. 75, 78; fig. 33c, d, e, f; Pl. XVIII, fig. 81, 82). Au fur et à mesure que se différencient les cellules filles, les sarconèmes, les rhoptries apparaissent. Le matériel nucléaire se rompt alors en trois parties : les deux branches se séparent dans les deux cellules filles, abandonnant un résidu nucléaire dans le cytoplasme de la cellule mère. Les centrocônes disparaissent, la membrane nucléaire se reforme (fig. 32i, j, k; Pl. XVIII, fig. 83; fig. 33g, h; Pl. XIX, fig. 84). La disposition des cellules filles à l'intérieur de la cellule mère est variable : ou bien elles ont la même orientation que la cellule initiale ou bien elles sont disposées tête-bêche (fig. 32j, k, fig. 33g, h; Pl. XIX, fig. 84). Cette variation tient à la mobilité des cellules dans le cytoplasme. La libération des cellules se fait par rupture de la membrane cellulaire de la cellule initiale dont les débris cellulaires sont rejetés dans le contenu des loges kystiques (fig. 32, Pl. XVII, fig. 79; fig. 33i, Pl. XIX, fig. 85).

4") *Evolution des endodyocytes des Toxoplasmea.*

Dans le cas de *Toxoplasma*, et particulièrement pour les cellules de l'exsudat péritonéal de Souris, les endodyocytes sont le point de départ de générations successives qui vont parasiter toutes les catégories possibles de cellules des tissus de l'hôte, l'endodyogénèse étant le mode de division aussi bien des *Toxoplasmes* libres que de ceux qui sont inclus dans les cellules hôtes (polynucléaires par exemple). Dans ce dernier cas, il semble que, si la plupart des cellules parasites poursuivent normalement leur évolution, certaines puissent être détruites par l'hôte. En effet, il n'est pas rare de trouver des *Toxoplasmes* dont le cytoplasme est plus ou moins vacuolisé et rempli de figures myéliniques, de dégénérescence : ce qui traduirait un des aspects de la défense de l'hôte.

Chez *S. tenella*, le sort des nombreux endodyocytes formés est plus complexe. Dans les kystes âgés, les différentes loges centrales sont vides de toute cellule. A la périphérie de cette zone, commence la dégénérescence centripète

des endodyocytes. Elle se caractérise par une vacuolisation cytoplasmique, une désorganisation des rideaux de sarconèmes, traduisant une autolyse des cellules (Pl. VII, fig. 27) qui aboutit à leur destruction complète et à la réalisation de figures myéliniques (Pl. XVII, fig. 80).

Cette dégénérescence atteint un grand nombre des premiers endodyocytes formés car la quantité de loges centrales vides plus ou moins sclérosées est très importante (plusieurs dizaines). Cependant la présence de kystes éclatés dans la musculature témoigne que l'évolution des endodyocytes des dernières générations est leur libération dans le milieu intérieur (sang, lymphe) de l'hôte où ils peuvent séjourner. Par analogie avec l'évolution des endodyocytes de *Toxoplasma*, on peut penser qu'ils sont le point de départ de nouvelles infections dans le même hôte.

En ce qui concerne le passage d'un hôte à l'autre, il est démontré que le *Toxoplasme* peut se transmettre par voie placentaire. On pourrait admettre une telle possibilité pour *Sarcocystis*, mais on doit remarquer qu'aucun agneau ne présente, à la naissance, de kystes décelables macroscopiquement. Expérimentalement, on peut transmettre la toxoplasmose par injections diverses, inhalations, nutrition. En outre, les *Toxoplasmes* sont décelables non seulement dans les cellules blanches du sang et de la lymphe, mais aussi dans diverses sécrétions : lait, salive, urine. Chez la *Souris*, il est démontré que la sarcosporidiose (*S. muris*) se transmet par ingestion. Si l'on admet la présence des parasites dans les différentes humeurs, la transmission d'un hôte à l'autre pourrait se faire sans cannibalisme et sans intervention d'un hôte intermédiaire.

Pour des raisons matérielles évidentes, nous n'avons pu réaliser des expériences de transmission chez le Mouton et toutes tentatives pour obtenir des souches de *S. muris* sont restées vaines et infructueuses.

Le cycle des *Toxoplasmea* reste donc douteux, en l'absence de nouvelles données. Néanmoins, il nous paraît qu'il puisse se réaliser de façon simple sans intervention d'un deuxième hôte.

Les observations précédentes montrent chez les *Toxoplasmes* et chez les *Sarcosporidies*,

d'une part la très grande similitude de l'organisation ultrastructurale, d'autre part l'identité des processus des divisions (scissiparité, endodyogénèse) durant une partie au moins du cycle de développement.

Les observations cliniques ont attiré l'attention sur l'action pathogène des *Toxoplasmes*, et les expériences d'injection d'extrait de *Sarcosporidies* à certains animaux ont fait parler d'une *Sarcocystine*. Dans le cas de *Toxoplasma*, il nous a paru intéressant de rechercher si la « toxine » de ce parasite (toxoplasmine) a sur l'embryon le même effet que le parasite lui-même, et dans le cas de *Sarcocystis* nous avons tenté de préciser la nature de la substance extraite (*sarcocystine*) toxique pour certains animaux.

IV. — Action d'un extrait de *Toxoplasmes* (Toxoplasmine) sur le développement embryonnaire du poulet

L'existence d'un principe toxique, toxoplasminique longtemps mis en doute, est prouvée depuis les expériences de FRENKEL (1948) qui utilisa un antigène extrait des *Toxoplasmes* pour réaliser son « intradermal-test » pour le diagnostic de la *Toxoplasmosé* chez l'adulte.

D'autre part, on sait depuis longtemps que la *Toxoplasmosé* détermine chez le fœtus une série d'altérations essentiellement encéphaliques telles que microcéphalie, hydrocéphalie, microphthalmie, chorio-rétinite, etc. (WOLF, COWEN et PAIGE, 1939). Les expériences effectuées jusqu'ici ont consisté à infecter des organismes avec les souches mêmes des *Toxoplasmes* vivants, par divers procédés : injections intradermiques, sous-cutanées, intra-musculaires, inhalations (DOBY, 1951). La plupart des expériences porte sur des individus adultes dans le but de provoquer expérimentalement la *Toxoplasmosé*. Nous citerons cependant quelques cas où des injections de *Toxoplasmes* ont été effectuées à des femelles en gestation pour étudier la transmission et les effets des parasites vis-à-vis des fœtus. Ainsi, ADAMS, COONEY, ADAMS et KABLER (1949) inoculent des *Toxoplasmes* d'exsudat péritonéal de Souris à deux Cobayes femelles

gravides : une semaine avant la mise-bas, des deux petits nés 3 jours avant terme, l'un est mort, l'autre présente une cataracte. GIROUD et coll. (1954) inoculent *Toxoplasma gondii* à des rattes du premier au onzième jour de la gestation : les fœtus sont atteints de cataractes et les lésions ont détruit un grand nombre de fibres cristalliniennes.

Chez les souris, infectés par le placenta, les lésions siègent au niveau du cerveau, des poumons et du cœur (COWEN et WOLF, 1950-1951). Aucune expérience n'a été faite ni directement sur l'embryon, ni avec un extrait brut de *Toxoplasmes* ou toxoplasmine. En collaboration avec Y. LUTZ-OSTERTAG (1966) (1), il nous a donc paru bon de rechercher quels pourraient être les effets de cette substance sur l'embryon du Poulet.

A. Matériel et technique.

Les œufs de Poule d'un premier lot sont ouverts et refermés sans intervention. Dans un second lot ils sont traités par le solvant servant à diluer la toxoplasmine, tandis que dans le 3^e lot, les embryons reçoivent la solution à expérimenter. Les œufs sont examinés deux fois par jour, et les embryons prélevés dès que leur développement est compromis. La solution à tester provient d'un broyat de *Toxoplasmes* d'exsudat péritonéal de Souris, effectués en solution aqueuse, isotonique, phénolée à 0,25 % et dilué au 1/3 000. Cette solution nous a été aimablement procurée par le Laboratoire de Protozoologie de l'Académie des Sciences tchécoslovaque. La solution témoin est le liquide isotonique phénolé à 0,25 %.

Au moment de l'injection, les embryons présentant déjà des anomalies sont rejetés pour ne pas fausser les résultats. Le décompte du nombre des somites permet de connaître le stade exact où est faite l'injection. L'intervention consiste à déposer sur l'embryon même, après avoir ou non enlevé la membrane vitelline, une cer-

(1) Que Madame Y. Lutz-Ostertag veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude pour l'étroite collaboration dans laquelle nous avons pu, grâce à elle, aborder ces recherches.

taine quantité de toxoplasmine ou de solvant seul. Les doses employées varient, de 0,005 ml à 0,15 ml par embryon.

B. Résultats des expériences.

Les embryons anormaux résultant de l'effraction, lors de l'ouverture de l'œuf, sont peu nombreux (20 embryons seulement sur 773 présentaient des anomalies : monstres doubles, microphthalmie unilatérale, anomalie de la partie postérieure du corps, acleïencéphales, embryons hydropiques, coelosomiens, lordosiques). L'action du solvant phénolé est plus importante et doit être considérée; sur 258 œufs injectés avec la solution témoin, 64 présentaient par la suite des anomalies (Microphthalmie unilatérale, anomalie du cerveau, spina-bifida, lordoses, embryons hydropiques, atrophie de la partie postérieure). La microphthalmie est l'anomalie la plus fréquemment observée : l'œil atteint est réduit mais il conserve la structure histologique d'un œil normal.

Des expériences réalisées avec la toxoplasmine, il résulte que la substance n'agit pas électivement sur une ébauche déterminée et que son action est d'autant plus intense que le stade de traitement est plus précoce. En outre, les ébauches paires et symétriques ne réagissent pas toujours de la même façon à la substance tératogène et l'action léthale se manifeste surtout au cours des 24 heures après le traitement chez les embryons injectés précocement.

Les anomalies sont surtout fréquentes lorsque l'injection intervient avant le stade de 18 somites. Les ébauches des organes y sont très sensibles. Au delà de 18 somites des malformations ne se produisent plus alors que d'autres apparaissent mais en très faible proportion.

Sur 229 embryons injectés avec l'extrait de Toxoplasmes, dont 158 embryons jusqu'au stade 18 somites, 12 seulement sont normaux, les 146 autres (90 % environ) présentant toute une gamme de malformations. Traités entre les stades 18 à 21 somites, 18 embryons sur 40 sont anormaux. Au delà de 21 somites la toxoplasmine ne semble plus avoir d'effet, au moins à la concentration et aux doses employées. Les

doses très faibles (0,005 ml) ont autant d'action que les doses plus fortes (0,15 ml) et, dans les deux cas nous trouvons les mêmes types de monstruosités et le même pourcentage d'embryons anormaux. Un même embryon peut présenter toute une série d'anomalies associées, dans tous les cas, à un retard dans le développement par rapport à celui des témoins. Ces anomalies siègent à différents niveaux :

1) *Amnios* : le capuchon céphalique, normalement arrondi et accolé contre la tête de l'embryon normal de 33 à 43 heures d'incubation, se prolonge chez les embryons traités par une pointe conique, allongée dans l'aire extra-embryonnaire. Lorsque l'amnios est presque totalement formé, il se condense parfois en un ou deux gros boutons d'où partent des épaississements radiaires. Dans tous les cas, le repli amniotique postérieur ne se développe pas.

2) *Anomalies de la circulation* : chez l'embryon normal la circulation extra-embryonnaire des îlots de Wolff, en se multipliant, donne l'aire vasculaire primaire dont les lacunes sanguines, situées à la limite de l'aire vasculaire, fusionnent très rapidement en un sinus marginal (vers la 22^e heure d'incubation); puis les veines omphalo mésentériques apparaissent à la 29^e heure. Chez l'embryon traité jusqu'au stade 15 somites la circulation extra-embryonnaire fait plus ou moins défaut, les hématies stagnent dans un sinus marginal distendu. Les veines et artères omphalo mésentériques ne se développent pas. Cette malformation entraîne rapidement la mort des embryons (4^e jour d'incubation au maximum). Le système circulatoire de l'embryon lui-même est atrophié. On note des hémorragies dans la partie caudale qui est réduite.

3) *Microcéphalie* : la réduction de la taille des trois vésicules cérébrales (télencéphale, diencéphale et mésencéphale) et une courbure peu accentuée de la tête dont les fossettes nasales sont dirigées vers le haut, entraînent une diminution importante du volume céphalique. Sur coupes histologiques, les parois latérales du cerveau présentant parfois des foyers nécrotiques, sont épaissies, les vésicules de taille réduite et de forme sinueuse, anormale, contiennent dans leur cavité de nombreux débris cel-

lulaires et noyaux pycnotiques. Cette malformation est obtenue chez 56 sur 87 embryons, fixés entre 3 et 4 jours d'incubation.

4) *Anomalies des yeux* : 121 embryons sur 229 (105 sur 158 traités avant le stade 18 somites) sont affectés d'anomalies oculaires (soit plus de 50 %). Ce sont essentiellement des microphthalmies unies ou bilatérales avec ou sans cristallin proéminent, des anophtalmies unilatérales. L'étude histologique montre la réduction de la taille de l'œil, l'absence ou la réduction de toutes les parties de l'œil. Quand le cristallin se développe bien, il est plus ou moins rejeté à l'extérieur. Suivant que l'invagination de la cupule optique a ou n'a pas pu s'effectuer, la rétine se présente de façon anarchique ou bien fait totalement défaut.

5) *Anomalies des vésicules auditives* : dans la plupart des cas, l'une ou l'autre des capsules auditives, recouverte d'un épais tissu conjonctif, est imperforée et ne communique pas avec l'extérieur.

6) *Anomalies du système nerveux central* : le système nerveux central présente des altérations autres que la microcéphalie. 94 sur 158 embryons, traités avant le stade 18 somites, présentent un élargissement ou une interruption du système nerveux qui peut même donner une *spina bifida*. Sur de tels embryons, laissés en développement durant 6 à 8 jours, on remarque de la brachyurie et de l'anourie. Certains sont des « syméloïdes » ou des « syrénoides ». Dans le cas d'une action précoce, avant la formation de la partie postérieure du système nerveux, le tube neural se développe plus ou moins incomplètement dans cette région où il peut même faire défaut totalement. Les somites peuvent alors se rejoindre au-dessus de ce qui reste du système nerveux et de la chorde.

Dans le cas d'injections plus tardives, avant la fermeture du tube neural, les anomalies sont caractérisées soit par un élargissement de ce dernier, soit par une *spina bifida* affectant des parties plus ou moins importantes du système nerveux tronc, mais surtout localisée dans la région postérieure de l'embryon. Aucune racine sensitive, aucun ganglion ne se différencient. L'étude histologique montre que, parfois, le canal épendymaire peut se fragmenter en plu-

sieurs portions (2 à 6) occupant le centre de masses nerveuses.

7) *Anomalies des somites* : ces anomalies se caractérisent par la présence ou bien de somites surnuméraires ou fusionnés localisés entre les bourgeons des pattes (11 cas sur 87) ou bien encore de somites atrophiés sur un ou deux côtés (30 cas sur 87). Quand il y a soudure de deux somites normaux et homologues en une seule lame somitique impaire ou plaque myotomiale, cette dernière coiffe le tube nerveux résiduel.

8) *Anomalies de la chorde* : quand la région caudale des embryons traités est atrophiée, la chorde est élargie ou dédoublée ou localement absente dans sa partie postérieure.

9) *Atrophie de la partie postérieure du tronc* (74 sur 158 embryons traités jusqu'au stade 18 somites présentent une atrophie postérieure plus ou moins importante). Elle peut résulter soit d'une hémorragie localisée dans la région correspondante, qui, par compression des tissus environnants, empêche la formation ou l'évolution des ébauches, soit de l'atrophie du système nerveux tronc, de la chorde ou du matériel mésodermique à ce niveau.

Dans le premier cas, les embryons, dont la partie postérieure est transformée en une ou plusieurs vésicules sanguines, sont presque hémisomes. Dans le second cas, quand on s'adresse à des embryons de 7 à 8 jours, l'atrophie de la région caudale s'accompagne de la réduction des bourgeons des pattes, en de simples stylets de 3 mm de long. Il existe souvent une anourie, mais le cloaque subsiste. Parfois le bourgeon caudal est très développé en un massif cellulaire hypertrophié analogue à celui obtenu par LANOT (1963) en injectant de la ribonucléase à de très jeunes embryons de Poulet.

10) *Développement inégal et anomalies des bourgeons des membres* :

Chez des embryons traités âgés de 4 à 7 jours permettant une comparaison sans équivoque, les bourgeons de l'une ou l'autre patte (ou aile) présentent un développement inégal. Ces membres se présentent alors sous forme de simples stylets parfois bifurqués. Leur position est perturbée (écartement, déviation), par l'élargissement du système nerveux.

11) Autres malformations.

On note également une grande proportion de courbure anormale du corps dont des lordoses plus ou moins marquées dans 58 cas sur 169.

Il n'est pas rare, non plus, d'obtenir, par l'action de la toxoplasmine, des embryons dont l'un des côtés est moins développé que l'autre, particulièrement au niveau du mésonéphros, accompagné souvent d'une hypertrophie du canal de Wolff et des canaux mésonéphritiques.

En outre, chez les embryons de moins de 4 jours, de longues vésicules le plus souvent paires, localisées entre les bourgeons des ailes et des pattes, de chaque côté du système nerveux et provenant d'un soulèvement de l'épiderme, entraînent la formation de kystes ectodermiques qui, selon leur importance, peuvent gêner le développement des somites sous-jacents qui s'atrophient.

C. Conclusion.

La sensibilité de l'embryon à différents facteurs physiques, chimiques ou microbiens est bien connue, et les résultats obtenus avec la toxoplasmine n'en sont qu'un nouvel exemple.

Dans nos expériences, si la solution isotonique (0,9 % de chlorure de sodium) n'a aucun effet sur le développement de l'embryon de Poulet, il n'en est pas de même après l'addition de phénol (0,25 %). Cette action tératogène du phénol a d'ailleurs été montrée par LANDAUER (1945). Cependant les résultats ainsi obtenus, ne sont pas comparables à ceux de la toxoplasmine dont on ne peut mettre en doute l'action tératogène très importante pour des embryons traités avant le stade de 18 somites (90 % de malformés). Au-delà de 22 somites, la toxoplasmine ne semble plus avoir d'effet.

Les tissus, les ébauches atteints sont variés.

La toxoplasmine agit sur le matériel chordomésodermique en provoquant des fragmentations, des réductions, des destructions, comme le font le bleu trypan (STÉPHAN et SUTTER, 1961; LANOT, 1962) ou la ribonucléase (LANOT, 1963), les rayons X (WOLFF, 1936) et les ultra-sons (LUTZ et LUTZ-OSTERTAG, 1957).

Le système nerveux subit des transformations. Au niveau du cerveau, les malformations (microcéphalie, nécrose, cellules pycnotiques) se rapprochent de celles trouvées par HAMBURGER et HABEL (1947) après injection des virus de l'influenza et de celui des oreillons. Les atrophies oculaires (Microphthalmies, anophthalmies, absence de rétine, etc.) obtenues par injection de toxoplasmine au moment de la formation de l'ébauche de l'œil, sont à rapprocher des observations faites, après extirpation du matériel prospectif de la rétine neurale chez l'embryon de Poulet, par GENIS-GALVEZ (1965) et chez le Triton par MANGOLD (1961) et BECKER (1960).

Le système nerveux tronc, atteint par des réductions et des atrophies pouvant aboutir à la formation de *spina bifida*, à des fragmentations, à la disparition complète d'importantes régions du tube neural, semble être extrêmement sensible à l'action de la toxoplasmine. De tels effets sont obtenus par des substances chimiques variées telles que le cacodylate de sodium, l'arséniate de sodium, le rubiazol, le chloral (ANCEL, 1950), par les rayons X (WOLFF, 1936) par les ultrasons (LUTZ et LUTZ-OSTERTAG, 1957), par hypoxie (BÜCHNER, RÜBSAAMEN et NAUJOCHS, 1953; LUTZ, 1958; LUTZ et LEPY, 1958; DUGNAT, 1966).

La réduction du système nerveux tronc, à son tour, agit secondairement sur la topographie du matériel somitique : formation, en particulier, d'une plaque myotomiale impaire et unique conduisant à la formation de monstres syméloïdes ou syrénoides. Ce phénomène obtenu grâce aux rayons X a permis à WOLFF (1936) de formuler la loi suivante : deux ébauches paires et symétriques concourent à donner un seul organe impair, médian, si l'on élimine, avant leur différenciation, les ébauches présumées qui viennent normalement se placer entre elles.

En résumé, la toxoplasmine, agit au niveau de diverses inductions, bloquant ou désorganisant certains territoires essentiels de l'embryon. Elle peut être ainsi la cause de troubles importants du développement embryonnaire comme le font les Toxoplasmes vivants lors des toxoplasmoses congénitales.

V. — Résultats préliminaires
de l'action d'extraits aqueux de *Sarcosporidies*
sur quelques animaux

C'est PFEIFFER qui, le premier soupçonna l'existence d'un principe toxique sarcosporidien, en signalant qu'après injection d'extrait de kystes de *Sarcosporidies*, le Lapin, pris de diarrhée meurt très rapidement en 4 à 7 heures (1890).

LAVERAN et MESNIL (1899b) reprenant les études de PFEIFFER, vérifient l'existence de l'action de cette toxine qu'ils dénomment sarcocystine. Par la suite, les études de MESNIL, CHATTON, PÉRARD (1913), puis celles de SATO (1926) ont permis d'établir que les kystes de diverses *Sarcosporidies* (du Porc, du Mouton, du Bœuf), fraîches ou desséchées, émulsionnées dans l'eau ou la glycérine, contiennent une substance thermolabile, détruite par l'acide chlorydrique, partiellement résistante aux alcalis faibles, absorbable par le kaolin, sans effet sur certains animaux de laboratoire tels que la Souris, le Cobaye, mais extrêmement toxique pour le Lapin. A côté des symptômes notés par SATO (1926) tels que l'hypothermie, la diarrhée, des paralysies partielles, des hémorragies capillaires, de la congestion et des oedèmes de divers organes, BABUDIÉRI (1932) signale une éosinophilie relative chez le Lapin traité.

Nous avons donc essayé de reprendre l'étude de la toxicité d'extrait de *Sarcosporidies* du Mouton, dont nous donnons les premiers résultats.

A. Préparation de l'extrait brut de *Sarcosporidies*.

Les kystes de *S. tenella* récoltés le plus rapidement possible, énucléés de la musculature oesophagienne, lavés dans une solution isotonique ou passés très rapidement dans la flamme d'un bec Bunsen, sont finalement stockés au congélateur à -35° environ, dans du liquide physiologique apyrogène ou dans de l'eau bi-distillée.

TABEAU 1

Analyse d'un extrait de *Sarcosporidies*
(en grammes par litre)

Extrait sec	11,1
Cendres (matières minérales)	1,075
Matières organiques	10,025
Azote	1,54
Protéines	9,47
Sucres réducteurs (en glucose)	0,48
Lipides totaux	0,48

Analyse des cendres
(en milligrammes par litre)

Chlorures en ions Cl	82
Sodium	117
Potassium	534
Calcium	néant
Non recherchés : Sulfates	
Phosphates.	

Quand une quantité suffisante de kystes (10 grammes environ) est obtenue il est procédé à la préparation de l'extrait brut selon une technique analogue à celle employée par JIROVEC et JIRA (1961) pour la préparation de l'antigène toxoplasmique.

Les kystes congelés sont préalablement dégelés lentement à la température de la pièce, puis émulsionnés à une température voisine de 0° à plus 2° , grâce au broyeur à couteaux métalliques Ultraturrax TP 18/2 de JANKE et KUNKEL (Staufen in Br.), tournant à 22 000 tours minute. Nous procédons à l'émulsion par de courts laps de temps de broyage (15 sec.) de manière à éviter toute élévation intempestive de température susceptible de détruire la substance active. Le broyage est stoppé quand nous n'observons aucune cellule intacte au microscope photonique à l'immersion.

Le broyat est remis au congélateur durant 2 à 3 jours au bout desquels il est procédé à une cryolyse répétée 3 ou 4 fois en 2 à 4 jours. Nous effectuons ensuite une nouvelle homogénéisation rapide.

Le produit brut est centrifugé entre 12 000 et 16 000 tours minute pendant une à deux heures. Au surnageant prélevé, est ajouté le liquide de lavage du culot centrifugé de la

même façon. L'ensemble est stocké au congélateur à -35° . La dilution de base que nous obtenons correspond en général à 100 grammes de kystes frais pour 1 000 ml de solution finale.

Le liquide ainsi obtenu est opalescent et ne se conserve pas à la température ordinaire.

L'analyse brute de cet extrait de *Sarcosporidie* (SÉNAUD et TRONCHE inédit) nous montre, comme on pouvait s'y attendre, qu'il s'agit d'un extrait riche en protéines (Tableau 1). Des essais de fragmentation de ces protéines par électrophorèse et par précipitation au sulfate d'ammonium sont en cours (VENDRELY et SÉNAUD, inédit) mais ne sont pas assez avancés pour que soit précisée la nature exacte de la toxine. Le seul fait évident est que certaines fractions essentiellement protidiques présentent les mêmes effets sur le Lapin que l'extrait total.

B. Observations.

Chez le Lapin, l'injection de sarcocystine par voie sous-cutanée, intramusculaire ou intrapéritonéale entraîne très rapidement la mort, de la même façon que l'implantation intradermique ou intramusculaire de kystes entiers et de kystes ouverts. La dose minimale mortelle semble se situer aux environs de 0,7 mg de kystes frais (soit 0,07 mg en poids sec) par kilogramme de lapin. Ces chiffres correspondent avec ceux de Sato (1926) qui donne 0,05 mg de kystes secs par kilogramme de lapin. La survie des lapins traités est très brève : plus la quantité de substance injectée est grande plus le temps de survie est faible et il ne dépasse jamais 48 heures, quand les doses sont voisines mais supérieures au seuil léthal. Pour les doses élevées, de l'ordre de 10 mg de kystes frais, les lapins meurent en 3 à 7 heures maximum.

Les symptômes de l'intoxication sont variés : une demi-heure environ après l'injection, une diarrhée intense qui se maintient jusqu'à la mort de l'animal, se déclenche. Le sujet réagit de moins en moins aux stimulations (bruits, chocs), ne se déplace plus qu'avec peine et reste prostré dans sa cage. L'hypothermie s'ins-

talle très rapidement dès la première heure et des températures de l'ordre de $33,5^{\circ}$ ne sont pas rares en début d'expérience, pouvant même tomber un peu plus bas juste avant la mort de l'animal. La prostration augmente. La respiration haletante dans la première heure, se ralentit de plus en plus. Dans les cas où l'animal résiste plus longtemps, la bouche et les narines évacuent une sérosité. Tous ces symptômes s'aggravent, l'animal mourant lentement, apparemment sans souffrir. Lorsque la survie est très courte (3 heures) on ne relève à l'autopsie, aucune lésion des organes. Par contre, lorsque la mort est intervenue plus tardivement (24 h), l'examen de ces derniers révèle en tout premier lieu, un gonflement important du gros intestin qui contient des matières liquides. De petites hémorragies peuvent se produire à la surface de l'intestin. Le foie et la rate ne sont pas touchés. Par contre, le cœur d'aspect blanchâtre, blême, est de consistance flasque. Les poumons et la trachée sont envahis par une sérosité.

Dans quelques cas, nous avons effectué des examens sanguins des animaux traités. On a noté une faible éosinophilie associée à une légère diminution du nombre des éléments blancs autres que les polynucléaires. La vitesse de sédimentation n'est pas modifiée, et les taux des différentes protéines sériques sont normaux.

L'action pharmacodynamique générale des extraits a été envisagée, à la fois chez le Chien (animal résistant) et chez le Lapin (animal sensible), les deux étant chloralosés. Dans aucun des cas, les extraits n'ont eu d'effet après injection par voie intraveineuse de doses variant de 1,5 à 4,8 mg par kilogramme d'animal. La pression artérielle, la respiration, la motilité intestinale ne présentent aucune anomalie décelable jusqu'à la mort des animaux (1).

L'état de prostration observé chez le Lapin traité nous avait fait penser à une action de la sarcocystine au niveau du système nerveux central. Cette activité a été recherchée d'une part, par l'observation directe des réactions de Souris ayant reçu des doses de l'extrait sarcosporidien et d'autre part, par des tests explo-

(1) DUCHÊNE-MARULLAZ et SÉNAUD : inédit.

rant l'agilité, l'équilibration, l'initiative motrice et la motilité des animaux : test de la tige tournante, TRIPOD et coll. (1957); test de la cheminée, BOISSIER et coll. (1960); test de la traction, Courvoisier (1956); test de l'évasion, KNEIPS (1960) (1). Les résultats obtenus sont décevants et si les Souris présentent des anomalies du comportement telles que : diminution de la motilité, réactivité exacerbée à la douleur associée à des phases d'excitation (tremblements, secousses, accélération de la respiration), celles-ci ne sont pas assez flagrantes pour décider si elles sont dues à la toxine.

CONCLUSIONS GENERALES

L'analyse des premiers stades du développement et de leur évolution progressive dans les tissus de l'hôte, montre des transformations très nettes et caractéristiques de la structure des kystes de Sarcosporidies (*S. tenella*). Dans les kystes jeunes, la paroi du nodule est lisse, puis, par des complications de plus en plus importantes aboutissant à une augmentation de sa surface, elle s'associe, dans les stades adultes, à d'autres tissus d'origine étrangère évidente, en un ensemble complexe et cohérent, constitué d'une strate interne dont les villosités sont ancrées dans une couche formée de la fibre musculaire atrophiée, elle-même revêtue d'une strate externe, conjonctive où s'accumulent des réserves glucidiques. La surface de la strate interne, revêtue d'une membrane unitaire est constituée de la juxtaposition d'alvéoles de 350 à 400 Å de profondeur sur 700 Å de diamètre. Sur le pourtour de ces dernières aboutissent des fibres tubulaires (80 à 120 Å de diamètre) provenant de la base des villosités et disposées en gerbes entrecroisées dans leur *internum*.

La présence des villosités est générale sur les kystes de Sarcosporidies. Leur forme et leur taille sont variables selon les espèces, mais elles ne peuvent être définies comme caractéristiques d'une espèce qu'après une étude de l'évolution totale du kyste, car elles changent au cours du développement du parasite. Par contre, la structure alvéolaire de la surface des

villosités et la présence de fibres tubulaires sont des caractères communs aux différentes espèces de Sarcosporidies.

L'hypothèse de CHATTON (1938a et b) de l'existence de complexes xénoparasitaires chez de nombreux organismes parasites mérite de retenir notre attention. Ces structures matérialiseraient la possibilité d'échanges importants entre le parasite et l'hôte. Parfois, c'est une cellule de l'hôte qui se modifie sous l'influence des demandes nutritives du parasite : c'est le cas chez *Globidium leukarti*, dans l'enveloppe duquel Chatton a retrouvé le noyau de la cellule hôte primordiale. Chez les Sarcosporidies, l'enveloppe interne portant les villosités appartient en propre au parasite car d'une part, nous n'avons jamais pu observer en microscopie photonique ou électronique aucune structure nucléaire, d'autre part, aucune membrane propre ne limite intérieurement cette strate.

Bien que l'enveloppe kystique des Sarcosporidies ait une double origine, le complexe parasitaire ainsi réalisé n'est donc pas homologue à celui d'un xénoparasitome tel que *Globidium* où la cellule hôte elle-même puise les éléments nutritifs pour le compte du parasite.

L'étude structurale et ultrastructurale des cellules de *Toxoplasma* et de *Sarcocystis* montre les rapports évidents qui réunissent ces Protozoaires.

La paroi des cellules (métrocytes et endodyocytes) est formée d'une membrane unitaire doublée du côté interne d'une strate mince granulo-fibrillaire qui avait fait interpréter l'enveloppe cellulaire comme double (LUDVIK, 1958). Cet épiplasme très réduit n'est interrompu chez les endodyocytes qu'au niveau de l'ouverture apicale du conoïde qui n'est alors recouvert que par la membrane cellulaire. La paroi ne montre aucune structure ni ornementation pouvant rappeler le réseau observable après imprégnation argentique. Les prétendus stéréocils des Toxoplasmes n'appartiennent pas aux parasites.

Par contre, la paroi cellulaire se déprime en une structure caractéristique présente à tous les stades cellulaires actuellement connus : le micropyle. A ce niveau, la membrane cellulaire invaginée est doublée de deux structures grossièrement cylindriques, emboîtées, ancrées dans

(1) DUCHÊNE-MARULLAZ et SÉNAUD : inédit.

le cytoplasme par des microfibrilles. Le fond de la cupule dont la membrane est amincie se prolonge dans le cytoplasme par des canaux qui passeraient au *reticulum* endoplasmique. Il apparaît maintenant évident que l'hypothèse de GARNHAM selon laquelle le micropyle ne serait qu'un simple orifice de sortie d'un « sporoplasme » (GARNHAM et coll. 1961b; GARNHAM, 1963), doit être abandonnée. La morphologie complexe de cet organite, en rapport avec un système de canaux intracytoplasmiques nous permet de supposer à son niveau, des échanges de substance entre la cellule et le milieu extérieur.

Le complexe apical des endodyocytes est essentiellement constitué de la même façon chez *T. gondii* et chez *S. tenella* : a) le conoïde régulièrement strié par des lignes sombres alternant avec des zones plus claires, implanté dans le cytoplasme au moyen de microfibrilles, est circonscrit par un anneau d'où partent 22 fibres sous-pelliculaires et il est surmonté de deux structures annulaires. Il constitue, selon toute vraisemblance, un organe de pénétration (les anneaux antérieurs formant un point d'appui à la cellule au moment où, par action mécanique, associée probablement à un processus enzymatique, le conoïde perfore les tissus de l'hôte). b) Les sarconèmes discrets chez *Toxoplasma* où ils n'occupent que la région proximale du conoïde, sont abondants chez *Sarcocystis*. Ce sont là des organites cylindriques, continus, disposés en rideaux plissés régulièrement mais dans des plans différents, les rideaux eux-mêmes étant juxtaposés parallèlement les uns aux autres. Ils constituent, à notre avis, dans le tiers antérieur de la cellule, une sorte d'armature déformable tandis que les 22 fibres sous-pelliculaires sont responsables des mouvements divers de ces Protozoaires. c) Les rhoptries, peu nombreuses chez *Sarcocystis* sont plus abondantes chez les *Toxoplasmes* où elles occupent une grande partie de la cellule. Elles se terminent toujours à l'apex du mucron antérieur, par des pédoncules traversant le conoïde. Leur structure spongio-fibrillaire, leur plus ou moins grand nombre et leur aspect variable (étriqué ou extrêmement gonflé), laisseraient penser à une fonction sécrétoire déjà supposée par GARNHAM (1963) et par VERMEIL et coll. (1965), active au

moment de l'implantation de la cellule dans les tissus de l'hôte.

Le chondriome, s'il est moins spectaculaire dans les cellules de *Toxoplasma* n'en présente pas moins une organisation ultrastructurale analogue à celle de la mitochondrie ramifiée contournée des endodyocytes de *Sarcocystis*. Les *microvilli* pédiculés, claviformes, s'affrontent régulièrement selon l'axe longitudinal de la mitochondrie.

L'appareil de Golgi, longtemps mis en doute chez les Sarcosporidies est grossièrement identique chez les deux parasites, bien qu'il occupe une place extrêmement fixe dans le cas de *Toxoplasma* où il est logé dans une sorte de cupule du noyau, alors que chez *S. tenella*, il est situé en un point quelconque du cytoplasme de la région périnucléaire.

La membrane nucléaire est percée de pores bordés chez *Sarcocystis* de 8 épaississements de la soudure des feuillettes.

Les inclusions deutoplasmiques sont essentiellement formées de granules lipidiques et de plages plus ou moins importantes d'amylopectine (paraglycogène).

Chez les Sarcosporidies, les cellules parasitaires se multiplient d'abord par scissiparité simple ou multiple : de telles cellules sont nommées eumétrocytes; elles sont dépourvues de complexe apical (conoïde, sarconèmes, rhoptries, fibres sous-pelliculaires). Elles aboutissent à la production d'hétérométrocytes à l'intérieur de chacun desquels, par endodyogenèse, s'édifient deux endodyocytes possédant un complexe apical. Ces derniers produisent à leur tour, selon le même procédé et en direction centripète, un grand nombre de générations successives de nouveaux endodyocytes : les premiers formés dégèrent progressivement dans les loges les plus centrales, tandis que le kyste s'accroît ainsi de volume.

Chez les *Toxoplasmes*, les cellules se multiplient par scissiparité multiple mais elles ne sont pas exactement l'homologue des eumétrocytes de *Sarcocystis* puisqu'elles aboutissent à la production directe de cellules pourvues d'un complexe apical. Ces dernières sont le point de départ par endodyogenèse de générations d'endodyocytes, sans être l'homologue des hétéro-

métrocytes de *Sarcocystis*, puisqu'elles ont un complexe apical.

La caractéristique essentielle de ces parasites est donc le processus particulier de division comportant l'organisation complète de deux cellules-filles à l'intérieur d'une cellule-mère initiale : l'endodyogenèse. Elle débute apparemment par la disparition de la membrane nucléaire. Un centrocône de structure fibrillaire apparaît, se dédouble, chacun des deux cônes ainsi formés, attirant le matériel nucléaire qui prend la forme d'un U. Coiffant chaque centrocône, deux conoïdes s'organisent, respectivement enveloppés, de façon progressive, par une membrane qui, progressant vers la partie opposée, isole autour des noyaux-fils deux territoires cytoplasmiques dans lesquels apparaissent bientôt rhoptries et sarconèmes. Les cellules-filles sont libérées par l'éclatement de la membrane de la cellule-mère, avec des résidus nucléaires et cytoplasmiques.

Les problèmes biologiques relatifs aux actions envisagées des toxines des *Toxoplasmes* et des *Sarcosporidies* ont été abordés. D'une part, la toxoplasmine a un effet nettement tératogène sur l'embryon de Poulet (atteinte du matériel chordo mésoblastique et nerveux), qui est en accord avec les observations des nombreuses malformations dues aux *Toxoplasmes* chez le fœtus humain. D'autre part, un extrait purifié par précipitations fractionnées de portions protéiques, obtenu à partir d'un broyat de kystes de *S. tenella*, présente les mêmes actions que ce dernier chez le Lapin qui serait le seul animal sensible à l'injection de cette ou de ces protéines (1).

D'après les aspects connus de leur cycle de développement, d'après leurs caractères structuraux et ultrastructuraux, d'après leur processus de division par endodyogenèse, il ne fait aucun doute que les *Toxoplasmes* et *Sarcosporidies* doivent être inclus dans un même groupe systématique, celui des *Toxoplasmea* Biocca, 1957.

La plupart des structures précédemment décrites, communes à *Sarcocystis* et à *Toxoplasma* ont été retrouvées chez de nombreux Protozoaires de la sous-classe des *Coccidia*

LEUCKART 1879 (2) et en particulier des sous-ordres des *Eimeriina* LÉGER 1911 et des *Haemosporina* Danilewsky 1885.

Chez les *Lankesterellidae*, à la fois dans les sporozoïtes de *Lankesterella garnhami* (LUDVIK, 1963a; GARNHAM, 1963) ou de *L. hylae* (STEPHENS, 1966), et dans les mérozoïtes ou trophozoïtes de *L. garnhami* (LAINSON et coll., 1961; GARNHAM et coll., 1962b, GARNHAM, 1963), un conoïde antérieur associé à une paire de rhoptries (organelles des auteurs) occupe l'apex de la cellule. D'autre part, un micropyle et des fibres sous-pelliculaires y ont été mises en évidence. Des sarconèmes (toxonèmes de certains auteurs) sont disséminés dans la proximité immédiate du conoïde.

Dans le cas des sporozoïtes de différents *Plasmodium* observés dans les glandes salivaires de moustiques infectés, le conoïde est absent et le pôle antérieur des cellules n'est occupé que par une petite dépression de la membrane cellulaire en forme de cupule dénommée coupe apicale par GARNHAM et coll. (1960). Mais les autres structures, micropyle, rhoptries, fibres sous-pelliculaires, sarconèmes, existent et elles ont été observées par GARNHAM et coll. (1960, 1961a, b, 1963), par GARNHAM (1963), et par LUDVIK (1963a) chez *Laverania* (*Plasmodium*) *falcipara*, *Haemamoeba* (*Plasmodium*) *gallinacea*, *Plasmodium vivax*, *Pl. bastianellii*, *Pl. ovale*, *Pl. brasilianum* et *Pl. cathemerium*.

Enfin la structure fine des mérozoïtes de plusieurs *Eimeria* de Mammifères montre d'importantes similitudes avec celle des cellules des *Lankesterellidae* et de *Plasmodium*, ce qui semble logique puisque, par ailleurs les cycles de développement réunissent ces formes dans le même ordre des *Eucoccidia* LÉGER et DUBOSCQ, 1910.

Chez *Eimeria perforans* (MOSSEVITCH et CHEISSIN, 1961), chez *E. stiedae* (SCHOLTYSECK et PIEKARSKY, 1965), chez *E. intestinalis* (CHEISSIN et SNIGIREVSKAYA, 1965) et chez *E. bovis* (SHEFFIELD et HAMMOND, 1965, 1966), divers organites ont une ultrastructure tellement semblable à celle des constituants cellu-

(2) D'après la classification des *Protozoa* proposée par le Comité de Taxonomie de la Société des Protozoologistes (HONIGBERG et coll., 1964).

(1) VENDRELY et SÉNAUD (inédit).

lares de *Toxoplasma* et de *Sarcocystis* qu'il est souvent difficile, sur les électrographies de reconnaître s'il s'agit de tel ou tel de ces Protozoaires (*Eimeria*, *Toxoplasma* ou *Sarcocystis*).

Chez les *Eimeria*, le conoïde est identique à celui des Toxoplasmes et Sarcosporidies et il constituerait, là aussi, un organe de perforation (CHEISSIN et SNIGIREVSKAYA, 1965). Les rhoptries existent dans les deux groupes et seul leur nombre et leur forme varient selon les parasites étudiés : toujours par paire chez les *Eimeria* (SCHOLTYSECK et PIEKARSKI, 1965; CHEISSIN et SNIGIREVSKAYA, 1965; SHEFFIELD et HAMMOND, 1966) et chez les *Plasmodium* (GARNHAM et coll., 1961b; GARNHAM, 1963), elles sont trapues et courtes chez *Lankesterella* (LUDVIK, 1963a), très nombreuses et occupant une grande partie de la région antérieure de la cellule de *Toxoplasma*, alors qu'elles apparaissent rubannées et moins nombreuses chez les Sarcosporidies. Dans tous les cas cependant, il s'agit d'organites massifs à contenu spongio-fibrillaire, qui traversent le conoïde pour se terminer, par des pédoncules étroits de même nature, à l'extrême pointe du mucron antérieur.

Les sarconèmes sont de densité variable selon les groupes : très nombreux et ordonnés en rideaux continus et régulièrement disposés chez *Sarcocystis*, plus sporadiques chez *Toxoplasma* ils sont également présents chez les *Lankesterella* et les *Plasmodium* (GARNHAM, 1963) et chez les *Eimeria* (SCHOLTYSECK et PIEKARSKI, 1965; SHEFFIELD et HAMMOND, 1966).

Les fibres sous-pelliculaires ont été trouvées également chez les *Eimeria* (CHEISSIN et SNIGIREVSKAYA, 1965; SCHOLTYSECK et PIEKARSKI, 1965; SHEFFIELD, HAMMOND, 1966). Leur nombre (22) est constant dans les cas de *Sarcocystis* et de *Toxoplasma* (SÉNAUD, 1965). SHEFFIELD et HAMMOND (1965-1966) en dénombre 22 aussi chez *E. bovis*, tandis que CHEISSIN et SNIGIREVSKAYA (1965) en comptent une trentaine dans les mérozoïtes d'*E. intestinalis*. Si, dans le cas d'*E. intestinalis*, CHEISSIN et SNIGIREVSKAYA (1965) les voient partir du conoïde même, il ne fait aucun doute que ces fibres sous-pelliculaires sont issues d'un anneau concentrique au conoïde chez les Toxoplasmes et

les Sarcosporidies comme chez *E. bovis* (SHEFFIELD et HAMMOND, 1966). De telles fibres plus ou moins nombreuses (15 à 25) parcourent également les cellules des *Lankesterella* et des *Plasmodium* (GARNHAM et coll., 1961b; GARNHAM, 1963; LUDVIK, 1963a; STEBHENS, 1966).

Le micropyle observé chez les Toxoplasmes (LUDVIK, 1963a; GARNHAM, 1963; SÉNAUD, 1965) chez les Sarcosporidies (SÉNAUD et DE PUYTORAC, 1962) a également été signalé chez les *Plasmodium* (GARNHAM et coll., 1961b-1963; GARNHAM, 1963; LUDVIK, 1963a) chez les *Lankesterella* (GARNHAM et coll., 1962b; GARNHAM, 1963; STEBHENS, 1966) chez les *Eimeria* (SCHOLTYSECK et PIEKARSKI, 1965; CHEISSIN et SNIGIREVSKAYA, 1965; SHEFFIELD et HAMMOND, 1965-1966) et peut-être chez une autre Coccidie du genre *Coelotropha* (VIVIER et HENNERÉ, 1965).

Quant aux phénomènes typiques de division par endodyogenèse des Sarcosporidies et des Toxoplasmes, ils n'ont été signalés dans aucun des groupes précédents. Il semble donc bien que l'endodyogenèse puisse constituer un caractère essentiel de la position systématique de ces parasites.

Jusqu'à ces dernières années, en l'absence de données ultrastructurales récentes, la plupart des auteurs ont classé les Toxoplasmes et Sarcosporidies en *incertae sedis* (GRASSÉ, 1953; VAN THIEL, 1956). Depuis, grâce à la mise en évidence d'organites cellulaires particuliers aux Coccidies et à ces parasites, deux interprétations différentes ont été proposées. CHEISSIN et POLJANSKY (1963), CHEISSIN (1965) considèrent que les caractères de ressemblance qui existent dans l'organisation structurale des Coccidies d'un côté, des Toxoplasmes et Sarcosporidies de l'autre, ne sont que des phénomènes de convergence réunis chez des organismes phylétiquement très éloignés. En conséquence, ils groupent Toxoplasmes et Sarcosporidies dans la classe des *Toxoplasmatea* qui, avec les classes des *Sarcodina*, des *Mastigophora*, des *Cnidosporidia* et des *Sporozoa*, constituent le sous-phylum des *Plasmodroma* (= *Homocaryota*). Ces derniers s'opposent, par leur appareil nucléaire monomorphe et par leur processus sexuel (gamétogénèse), aux *Ciliophora* (*Hétérocaryota*) caractérisés par l'ap-

pareil nucléaire hétéromorphe et par les phénomènes de conjugaison.

Inversement, pour d'autres auteurs, un rapprochement entre *Toxoplasmes* et *Sarcosporidies* d'une part (LUDVIK, 1958, 1960; LÉVINE, 1961b; SÉNAUD, 1965), entre *Toxoplasmes* et *Coccidies* d'autre part (SCHOLTYSECK et PIEKARSKI, 1965; SHEFFIELD et HAMMOND, 1965-1966) paraît raisonnable.

Le Comité de Taxonomie de la Société des Protozoologistes semble opter pour cette dernière opinion et fait des *Toxoplasmea* une classe des *Sporozoa* au même titre que les classes des *Telosporea* et des *Haplosporea*. Il nous paraît difficilement concevable que l'ensemble des caractères structuraux ci-dessus énoncés et similaires entre *Coccidies*, *Sarcosporidies* et *Toxoplasmes* soit la manifestation de seuls phénomènes adaptatifs analogues.

Ainsi nous considérons, d'après les données récentes que les *Sarcosporidies* et les *Toxoplasmes* peuvent être inclus dans les *Sporozoa*. S'il était démontré que leur cycle ne comporte aucune phase sexuée, on aurait même pu envisager de les classer en un ordre des *Coccidia*, mais le processus de division par endodyogenèse jamais observé chez les *Coccidies* jusqu'à ce jour, suffirait alors à les séparer de cette sous-classe. C'est pourquoi, la position des *Toxoplasmea* comme classe voisine des *Telosporea* SCHAUDINN 1900, dans le sous-phyllum des *Sporozoa* nous paraît satisfaisante. Les caractères de cette classe sont les suivants : *Sporozoa* monoxènes dont la reproduction se fait uniquement par voie asexuée et procède par une phase de scissiparité simple ou multiple (schizogonie) suivie d'une phase d'endodyogenèse. Présence de kystes.

Parmi les *Toxoplasmea*, LÉVINE (1961a) distingue deux familles : les *Sarcocystidae* et les *Toxoplasmatidae* en se fondant essentiellement sur la présence du processus d'endodyogenèse chez les seuls *Toxoplasmes*. Aujourd'hui que nous savons l'existence d'un tel processus chez les *Sarcosporidies*, il nous paraît néanmoins justifié de maintenir une subdivision de ce niveau au moins en nous basant sur le fait que les endodyocytes ne dérivent pas exactement des mêmes types cellulaires chez *Sarcocystis* et chez *Toxoplasma*.

Les caractères des 2 familles sont les suivants : *Sarcocystidae*, endodyocytes issus par endodyogenèse d'hétérométhrocytes eux-mêmes formés par schizogonie. Multiplication dans des kystes cloisonnés. Stades cellulaires libres rares. Endodyocytes présentant de nombreux sarconèmes et peu de rhoptries.

Genre *Sarcocystis* (LANKESTER, 1882) (1).

Toxoplasmatidae : scissiparité multiple produisant directement des cellules pourvues d'un complexe apical (conoïde, rhoptries, etc.) origine des endodyocytes. Multiplication intra ou extracellulaire. Endodyocytes à nombreuses rhoptries et peu de sarconèmes.

Genres *Toxoplasma* (NICOLLE et MANCEAUX, 1908).

Encephalitozoon (LEVADITI, NICOLAU, SCHOEN, 1923).

Besnoitia (HENRI, 1913).

BIBLIOGRAPHIE

- ADAMS F.H., COONEY M., ADAMS J.M. et KABLER P. (1949). — Experimental toxoplasmosis. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, **70**, p. 258-260.
- AFZÉLIUS B.A. (1955). — The ultrastructure of the nuclear membrane of the sea urchin oocyte as studied with the electron microscope. *Exp. Cell Res.*, **8**, n° 1, p. 147-158.
- AKINSHINA G.T. et BYKOVSKY A.F. (1964). — Submicroscopical structure of *Toxoplasma gondii*. *Zool. Zh. SSSR*, **43**, n° 9, p. 1391-1394.
- ALEXÉIEFF A. (1913). — Recherches sur les *Sarcosporidies*. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, **51**, p. 521-569.
- ANCEL P. (1950). — La chimiotératogénèse. Réalisation des monstruosité par des substances chimiques chez les Vertébrés. G. Douin et C^{ie} édit., Paris.
- ANDRÉ J. et ROUILLER Ch. (1956). — L'ultrastructure de la membrane nucléaire des ovocytes de l'Araignée (*Tegenaria domestica* (Clerk)). *Proc. Stockholm Conf. electron microsc.*, p. 162-164.
- APT W. (1964). — Transmission congénita. Estado actual del problema. III. *Toxoplasma gondii*. *Bol. Chileno Parasitol.*, **19**, n° 4, p. 127-132.
- AWAD F.I. (1954a). — Calcified section of *Sarcocystis tenella*, which could be confused with pseudotuberculosis, in sheep. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **48**, n° 4, p. 281-282.

(1) Nous incluons dans ce genre, les *M. Organismus* (LUDVIK, 1963a).

- AWAD F.I. (1954b). — A new dye test for *Toxoplasma* and *Sarcocystis* infections by use of *Sarcocystis tenella* spores. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **48**, n° 4, p. 337-341.
- AWAD F.I. (1957). — The Intradermal Sarcocystin Test. *Amer. J. Vet. Res.*, **18**, n° 68, p. 703-704.
- AWAD F.I. (1958). — The Complement-Fixation Test in the Diagnosis of Sarcosporidiosis. *Amer. J. Vet. Res.*, p. 1010-1012.
- AWAD F.I. et LAINSON R. (1954). — A note on the serology of sarcosporidiosis and toxoplasmosis. *J. Clin. Pathol.*, **7**, n° 2, p. 152-156.
- BABUDIERI B. (1932). — I Sarcosporidi e le Sarcosporidiosi (Studio monografico). *Arch. f. Protist.*, **76**, n° 3, p. 421-580.
- BALBIANI (1882). — Les Sporozoaires. Seconde partie du cours d'embryogénie comparée, professé au Collège de France pendant le second semestre de 1882, par le Professeur Balbiani. *J. Microgr.*, **6**, p. 281-290.
- BALFOUR A. (1913-14). — A Sarcocyst of a Gazelle (*G. rubifrons*) showing differentiation of spores by vital staining. *Parasitology*, **6**, p. 52-56.
- BALL G.H. (1944). — *Sarcosporidia* in southern California lizards. *Trans. Amer. Microsc. Soc.*, **63**, n° 2, p. 144-148.
- BECKER V. (1960). — Untersuchungen über Abhängigkeit der Linsenbildung bei *Triturus alpestris*. *Roux' Archiv.*, **152**, p. 339-372.
- BERTRAM Dr. (1892). — Beiträge zur Kenntniss der Sarcosporidien nebst einem Anhang über parasitische Schläuche in der Leibeshöhle von Rotatorien. *Zool. Jahr.*, **5**, p. 581-604.
- BESNOIT Ch. et ROBIN V. (1913). — Les réactions cellulaires dans la sarcosporidiose cutanée. *C.R. Soc. Biol.*, **75**, p. 357-360.
- BESNOIT Ch. et ROBIN V. (1914a). — Les lésions de la sarcosporidiose cutanée dans leurs rapports avec l'histogénèse du tubercule. *Rev. Vét.*, **39**, n° 4, p. 193-207.
- BESNOIT Ch. et ROBIN V. (1914b). — Nouvelles observations de sarcosporidiose cutanée chez les Bovins. *Rev. Vét.*, **39**, n° 5, p. 257-262.
- BESNOIT Ch. et ROBIN V. (1914c). — Anasarque, éléphantisme et sarcosporidiose cutanée du bœuf. *Rev. Vét.*, **39**, n° 7, p. 385-392.
- BODIAN D. (1937a). — A new method for staining nerve fibers and nerve endings in mounted paraffin sections. *The anatomical record.*, **65**, p. 89-97.
- BODIAN D. (1937b). — Fixatives for activated protargol method. *The anatomical record.*, **69**, p. 153-162.
- BOISSIER J.R., TARDY J. et DIVERRES J.C. (1960). — A new simple method for determining tranquillizing activity: the chimney test. *Med. exp.*, **3**, n° 1, p. 81-84.
- BOSCARDI F. (1943). — Sul reperto di spore di *Sarcocystis tenella* libere nel sangue circolante del dromedario. *Riv. Parassitol.*, **7**, n° 2, p. 79-86.
- BRAUNSTEINER H., PAKESCH F. et THALHAMMER O. (1957). — Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Morphologie des *Toxoplasma gondii* und das Wesen des Farbtastes nach Sabin-Feldman. *Wiener Zeitschr. f. Inn. Med. u. Grenzgeb.*, **38**, p. 16-27.
- BRINGMANN G. et HOLZ J. (1954). — Die Bewegungsorganellen des *Toxoplasma gondii*. *Zeitschr. f. Tropenmed. Parasitol.*, **5**, p. 54-57.
- BÜCHNER F., RÜBSAAMEN H. et NAUJOCHS H. (1953). — Missbildungen am Hühnerkeim nach kurzfristigem Sauerstoffmangel in der Frühentwicklung. *Naturwissenschaften*, **40**, p. 276.
- CARINI A. et MIGLIANO L. (1916). — Sur un Toxoplasme du cobaye (*Toxoplasma caviae* n.sp.). *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, **9**, p. 435-436.
- CASTELLANI A. (1914). — Note on certain Protozoa-like bodies in a case of protracted fever with splenomegaly. *J. Trop. Med. Hyg.*, **17**, n° 8, p. 113-114.
- CATHIE I.A.B. et DUDGEON J.A. (1949). — The laboratory diagnosis of toxoplasmosis. *J. Clin. Pathol.*, **2**, p. 259-265.
- CÉSARI M. (1921). — Un procédé commode de recherches des Sarcosporidies dans les muscles. *Rec. Méd. Vét.*, **97**, n° 2, p. 100-102.
- CHATTON E. (1910). — Le kyste de Gilruth dans la muqueuse stomacale des ovidés. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, **5**, p. 114-124.
- CHATTON E. (1937). — Un nouvel élément de la structure des Sporozoaires: l'argyrome. *C.R. Acad. Sc.*, **204**, p. 633-636.
- CHATTON E. (1938a). — Un xénoparasitome dans la muqueuse stomacale des Ovidés. *Titres et travaux scientifiques*. E. Settano éd. (Sète), p. 181-184.
- CHATTON E. (1938b). — Les complexes xénoparasitaires ou xénoparasitomes. *Titres et travaux scientifiques*, E. Settano, édité. (Sète), p. 380-385.
- CHATTON E. et AVEL M. (1923). — Sur la Sarcosporidie du Gecko et ses cytophagmères. La paroi et le *reticulum* sarcosporidien appartiennent en propre au parasite. *C.R. Soc. Biol.*, **89**, p. 181-185.
- CHATTON E. et BLANC G. (1917). — Notes et réflexions sur le Toxoplasme et la toxoplasmose du Gondi (*Toxoplasma gondii* Ch. NICOLLE et MANCEAUX, 1909). *Arch. Inst. Past. Tunis.*, **10**, 1 et 2, p. 1-40.
- CHEISSIN E.M. (1965). — On the systematical position of *Toxoplasma* in Protozoa. *Acta Protozool.*, **3**, n° 10, p. 111-113.
- CHEISSIN E.M. et POLJANSKY G.I. (1963). — On the taxonomic system of Protozoa. *Acta Protozool.*, **1**, n° 31, p. 327-352.
- CHEISSIN E.M. et SNIGIREVSKAYA E.S. (1965). — Nouvelle contribution à l'étude infrastructurale des mérozoïtes d'*Eimeria intestinalis* (Sporozoa-Eimeridea). *Protistologica*, **1**, n° 1, p. 123-126.
- COURVOISIER S. (1956). — Pharmacodynamic basis for the use of chlorpromazine in psychiatry. *J. Clin. exp. Psychopath.*, **17**, n° 2, p. 25-37.

- COUTELEN F., BIGUET J., DOBY J.M. et DEBLOCK St. (1952). — Toxoplasmose des Vertébrés poikilothermes. Unicité ou pluralité des espèces de Toxoplasmes. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, **45**, n° 4, p. 539-546.
- COWEN D. et WOLF A. (1950). — Experimental congenital toxoplasmosis. 2. Transmission of toxoplasmosis to the placenta and fetus following vaginal infection in the mouse. *J. Exp. Med.*, **92**, p. 403-416.
- COWEN D. et WOLF A. (1951). — Experimental congenital toxoplasmosis. 4. Genital and secondary lesions in the mouse infected with *Toxoplasma* by the vaginal route. *J. Neuropath.*, **10**, p. 1-15.
- CRAWLEY H. (1914a). — The evolution of *Sarcocystis muris* in the intestinal cells of the mouse. *Proc. Acad. Nat. Sc. Philadelphia*, **66**, p. 432-436.
- CRAWLEY H. (1914b). — Two new *Sarcosporidia*. *Proc. Acad. Nat. Sc. Philadelphia*, **66**, p. 214-218.
- CRAWLEY H. (1916). — The sexual evolution of *Sarcocystis muris*. *Proc. Acad. Nat. Sc. Philadelphia*, **68**, p. 2-43.
- CROSS J.B. (1947). — A cytologic study of *Toxoplasma* with special reference to its effect on the host's cell. *J. Inf. Dis.*, **80**, p. 278-296.
- DAMMANN C. (1867). — Ein Fall von "Psorospermienkrankheit" beim Schafe. *Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med.*, **41**, n° 4, p. 283-286.
- DESMONTS G. (1961). — Sérologie de la toxoplasmose. *Ann. Biol. Chim.*, **19**, n° 1 et 2, p. 13-28.
- DESMONTS G. et COUVREUR J. (1963). — Enquête sur la toxoplasmose congénitale. *Bull. Inst. Nat. Hyg.*, **18**, n° 2, p. 209-218.
- DOBY J.M. (1951). — Contribution à l'étude expérimentale de la toxoplasmose. Thèse de pharmacie. Lille, 196 p.
- DUGNAT J.M. (1965). — Action du gaz d'éclairage et du gaz de Lacq sur le système nerveux de l'embryon d'Oiseaux. *C.R. Soc. Biol.*, **159**, p. 1545-1547.
- ERDMANN Rh. (1910a). — Beiträge zur Morphologie und entwicklungsgeschichte des Hammelsarcosporids in der Maus. *Zentralbl. Bakt. Parasitenk. Inf. Hyg.*, **53**, n° 5, p. 510.
- ERDMANN Rh. (1910b). — Die Entwicklung der *Sarcocystis muris* in der Muskulatur. *Sitzungsbericht der Gesellschaft naturforschender Freunde zu Berlin*, **9**, p. 377-387.
- ERDMANN Rh. (1914a). — The schizogony in the life-cycle of *Sarcocystis muris*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **11**, p. 152-153.
- ERDMANN Rh. (1914b). — Zu einigen strittigen Punkten der Sarkosporidienforschung. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, **53**, p. 579-596.
- FAURÉ-FRÉMIET E. et THAUREAUX J. (1944). — Les globules de « paraglycogène » chez *Balantidium elongatum* et *Vorticella monilata*. *Bull. Soc. Zool. France*, **69**, p. 3 à 6.
- FÉDOROVITCH A.I. (1916). — Hémoparasites trouvés dans un cas de fièvre chronique. *Ann. Inst. Past.*, **30**, p. 249-250.
- FERRET P. (1903). — L'évolution de la cuticule du *Sarcocystis tenella*. *C.R. Soc. Biol.*, **55**, p. 1054-1055.
- FRANÇOIS J. (1963). — La toxoplasmose et ses manifestations oculaires. Masson et Cie éd. Paris, 613 p.
- FRENKEL J.K. (1948). — Dermal hypersensitivity to *Toxoplasma* antigens (Toxoplasmins). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **68**, n° 1, p. 634-639.
- GALOUZO J.G. et ZASSUCHIN D.N. (1963). — Toxoplasmosis of man and animals. *Acad. of Sci. of the Kazakh SSR Publishing House. Alma-Ata.*, 407 p.
- GARIN J.P. (1957). — Formes cliniques, diagnostic et traitement de la toxoplasmose humaine. *J. méd. Lyon*, février, p. 155-162.
- GARIN J.P. (1960). — Contribution to the study of acquired human toxoplasmosis. *Human toxoplasmosis*. Munksgaard éd., Copenhagen, p. 87-102.
- GARIN J.P. (1962). — Les méthodes de laboratoire appliquées au diagnostic de la toxoplasmose humaine. *Rev. Hyg. Méd. Soc.*, **10**, n° 3, p. 218-248.
- GARIN J.P. et AMBROISE-THOMAS P. (1963). — Le diagnostic sérologique de la toxoplasmose par la méthode des anticorps fluorescents (technique indirecte). *La Presse Médicale*, **71**, n° 52, p. 2485-2488.
- GARIN J.P. et DESPEIGNES (1964). — Une méthode sérologique de diagnostic de la toxoplasmose. L'agglutination des particules de bentonite sensibilisées. *La Presse Médicale*, **72**, n° 40, p. 2317-2320.
- GARNHAM P.C.C. (1963). — The ultrastructure of *Haemosporidia* and allied *Protozoa* with special reference to the motile stages. *Proc. 1st. Intern. Cong. Protozool. Progress in Protozoology Prague*, p. 427-433, 1961 publié en 1963.
- GARNHAM P.C.C., BIRD R.G. et BAKER J.R. (1960). — Electron microscope study of motile stages of *Malaria* parasites. 1. The fine structure of the sporozoites of *Haemamoeba* (= *Plasmodium*) *gallinacea*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **54**, n° 3, p. 274-278.
- GARNHAM P.C.C., BIRD R.G., BAKER J.R., BRAY R.S. et HEALEY P. (1961a). — Electron micrographs of sections of *Laverania* (= *Plasmodium*) *falcipara* sporozoites. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **55**, n° 1, p. 9.
- GARNHAM P.C.C., BIRD R.G., BAKER J.R. et BRAY R.S. (1961b). — Electron microscope studies of the motile stages of *Malaria* parasites. 2. The fine structure of the sporozoite of *Laverania* (= *Plasmodium*) *falcipara*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **55**, n° 1, p. 98-102.
- GARNHAM P.C.C., BAKER J.R. et BIRD R.G. (1962a). — Fine structure of cystic form of *Toxoplasma gondii*. *Brit. Med. J.*, n° 5271, p. 83-84.
- GARNHAM P.C.C., BAKER J.R. et BIRD R.G. (1962b). — The fine structure of *Lankesterella garnhami*. *J. Protozool.*, **9**, n° 1, p. 107-114.
- GARNHAM P.C.C., BIRD R.G. et BAKER J.R. (1963). — Electron microscope studies of motile stages of *Malaria* parasites. 4. The fine structure of the sporozoites of four species of *Plasmodium*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **57**, n° 1, p. 27-31.

- GAVIN M.A., WANKO T. et JACOBS L. (1962). — Electron microscop studies of reproducing and interkinetic *Toxoplasma*. *J. Protozool.*, **9**, n° 2, p. 222-234.
- GEISSLER H. (1963). — Beitrag zur diagnostik der Toxoplasmose. *Zentralbl. f. Veterinärmed.*, **10**, n° 3, p. 231-234.
- GENIS-GALVEZ J.M. (1965). — Quelques aspects de la différenciation et détermination du cristallin. *C.R. Ass. Anat.*, **125**, p. 642-653.
- GIBSON C.L. et EYLES D.E. (1957). — *Toxoplasma* infections in animals associated with a case of human congenital toxoplasmosis. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, **6**, p. 990-1000.
- GIROUD P. (1957). — Observations et données expérimentales concernant les avortements chez l'homme et l'animal (Rickettsioses, Toxoplasmoses, Néorickettsioses ou Groupe Psittacose). *Arch. Inst. Past. Tunis.*, **34**, n° 2, p. 187-206.
- GIROUD P. (1963). — Toxoplasmes et toxoplasmoses. *Maroc Médical*, n° 457-42-63, p. 451-460.
- GIROUD P., GIROUD A. et MARTINET M. (1954). — Répercussions de l'inoculation de Toxoplasmes à des rattes gestantes. *C.R. Soc. Biol.*, **148**, p. 1030-1031.
- GOLDMAN M., CARVER R.K. et SULZER A.J. (1957). — Similar internal morphology of *Toxoplasma gondii* and *Besnoitia jellisoni* stained with silver protein. *J. Parasitol.*, **43**, p. 490-491.
- GOLDMAN M., CARVER R.K. et SULZER A.J. (1958). — Reproduction of *Toxoplasma gondii* by internal budding. *J. Parasitol.*, **44**, p. 161-171.
- GRAIN J. (1966). — *Etude cytologique de quelques Ciliés Holotriches endocommensaux des Ruminants et des Equidés*. Clermont-Ferrand, Editions du C.N.R.S., 141 p., 31 pl. h.-t.
- GRASSÉ P.P. (1953). — *Traité de Zoologie. Protozoaires*, **1**, fasc. 1. Masson Ed., Paris.
- GRASSÉ P.P. (1960). — Les Myxosporidies sont des organismes pluricellulaires. *C.R. Acad. Sci.*, **251**, n° 23, p. 2638-2640.
- GROULADE P. (1963). — Toxoplasmose du chien et du chat. *Rev. Path. Gén. Phys. Clin.*, **752**, p. 959-999.
- GROULADE P. et GUERRE R. (1956a). — Toxoplasmose des Carnivores domestiques. *Eléments de diagnostic-Essai de traitement*. *Bull. Soc. Vét. Prat. France*, **5**, p. 305-313.
- GROULADE P., SERGENT G. et BEQUIGNON R. (1956b). — Formes cliniques de la toxoplasmose chez les Carnivores domestiques. *Bull. Acad. Vét. France*, **29**, n° 1, p. 49-57.
- GROULADE P., VALLÉE A., LEVADITI J., VIRAT B. et GUERRE R. (1956c). — 1. Enzootie dans un élevage de chiens (avec présence de Toxoplasmes dans le poumon de l'un deux). 2. Enzootie de toxoplasmose chez le lapin : traitement par les sulfones. *Bull. Soc. Vét. Prat. France*, 4 avril 1956, p. 264-269.
- GROULADE P., VALLÉE A. et LEVADITI J.C. (1960). — Un cas de toxoplasmose miliaire diffuse chez le chien. *Bull. Acad. Vét. France*, **33**, p. 247-252.
- GUILHON J. (1957). — Colloque sur les Toxoplasmes et les toxoplasmoses animales. *Rec. Méd. Vét.*, **133**, n° 11, p. 715-794.
- GUILLO B. (1961). — La toxoplasmose. Diagnostic. Epi-démiologie. *Bull. Off. Intern. Epizootics.*, **55**, n°s 1-2, p. 22-58.
- GUIMARAES F.N. et MEYER H. (1942). — Cultivo de « *Toxoplasma* » Nicolle et Manceaux, 1909, em culturas de tecidos. *Rev. Brasil. Biol.*, **2**, n° 1, p. 123-129.
- GUSTAVSON P.V., AGAR H.D. et CRAMER D.I. (1954). — An electron Microscope study of *Toxoplasma*. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, **3**, n° 6, p. 1008-1021.
- HAGUENAU F. et BERNHARD W. (1955). — Particularités structurales de la membrane nucléaire. Etude au microscope électronique de cellules normales et cancéreuses. *Bull. Assoc. Franç. Et. Cancer.*, **42**, n° 1, p. 537-544.
- HAMBURGER V. et HABEL K. (1947). — Teratogenetic and lethal effects of Influenza A. and Mumps viruses on early Chick embryos. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. U.S.A.*, **66**, p. 608.
- HEIDELMAN J.H. (1945). — Evaluation of *Toxoplasma* neutralization tests in cases of chorioretinitis. *Arch. Ophthalm.*, **34**, p. 28-39.
- HERBST (1851). — Königliche Gesellschaft der Wissenschaften. *Nachrichten von der Georg-Augusts-Universität und der Königl. Gesellschaft der Wissenschaften*, n° 1 à 19, p. 260-264.
- HERMAN C.M. (1937). — *Toxoplasma* in north american birds and attempted transmission to canaries and chickens. *Amer. J. Hyg.*, **25**, p. 303-313.
- HÉROVICI C. (1960). — Trois formules de technique histologique. *Path. Biol.*, **8**, n°s 5-6, p. 585-588.
- HOLZ J. (1955). — Zur Morphologie der "Cysten" von *Toxoplasma gondii* und *Sarcocystis tenella*. *Frankfurter Zeitschr. f. Pathol.*, **66**, n° 1, p. 24-28.
- HONIGBERG B.M., BALAMUTH W., BOVES E.C., CORLISS J.O., GOJDICS M., HALL R.P., KUDO R.R., LEVINE N.D., LOEBLICH A.R., WEISER J. et WENRICH D.H. (1964). — A revised classification of the *Phylum Protozoa*. *J. Protozool.*, **11**, n° 1, p. 7-20.
- HOSTOMSKA L., JIROVEC O., HORACKOVA M. et HRUBCOVA M. (1957). — Mongolismus und latente Toxoplasmose der Mutter. *Endokrinologie*, **34**, n°s 5-6, p. 296-304.
- JANIN F. (1907). — Recherches sur la Sarcosporidie du mouton. *Arch. Parasitol.*, **11**, n° 2, p. 233-268.
- JANKU J. (1923). — (En Tchèque). Pathogénèse et anatomie pathologique du colobome de la macula dans un oeil de dimension normale et dans un oeil microphthalme avec parasite dans la rétine. *Cas. Lek. Cesk.*, **62**, n° 39, p. 1021-1027; 1054-1059; 1081-1085; 1111-1115; 1138-1144.
- JIRA J., BOZDECH V. et HEYBERGER K. (1963). — Contribution to the technique of the Complement Fixation Test with *Toxoplasma* antigens and its evaluation and importance for the diagnosis of Toxoplasmosis. *Wiadomosci Parazytologiczne*, **9**, n° 6, p. 501-529.

- JIRA J., EICHLER W. et WILDFUHR G. (1964). — Der Toxoplasmosen-Erreger (*Toxoplasma gondii*). *Angewandte Parasitol.*, **5**, n° 1, p. 1-27.
- JIROVEC O. (1963). — Ungelöste Probleme der Toxoplasmosenforschung. *Zeitschr. f. Ges. Hyg. u. Grenzgeb.*, **9**, n° 1, p. 68-76.
- JIROVEC O. et JIRA J. (1961). — A contribution to the technique of intracutaneous testing with toxoplasmin. *J. Clin. Pathol.*, **14**, p. 522-524.
- KALLAB K. (1966). — Ueber das Vorkommen von Sarcosporidien. *Wien tierärztl. Monatsschr.*, vol. **53**, n° 1, p. 34-39.
- KEAN B.H. et GROCOTT R.G. (1945). — Sarcosporidiosis or toxoplasmosis in man and guinea-pig. *Amer. J. Pathol.*, **21**, n° 3, p. 467-479.
- KEI Arai Dr. (1925). — Beitrag zur Infektion der Maus mit *Sarcocystis tenella*. *Arch. f. Protist.*, **50**, p. 213-219.
- KNEIPS P. (1960). — Kletter-trieb und Kletter-test. *Arch. int. Pharmacodyn.*, **126**, n° 1 et 2, p. 238-245.
- KOCH M. (1901). — Ueber Sarcosporidien. *Verhandlungen des V. Intern. Zool. Congr. Berlin.*, 12-16 August 1901, p. 674-684.
- KOCH M. (1904). — Die experimentelle Uebertragung der Miescher'schen Schläuche. *Berliner Klin. Wochenschr.*, **41**, p. 321.
- KRAMAR J. (1963). — Versuch der verwendung markierter fluoreszierender Antikörper in der serologischen diagnose der Toxoplasmosen. *Proc. 1st. Intern. Congr. Protozool. Progress in Protozoology*, Prague, p. 381-383, 1961 publié en 1963.
- LAINSON R., BAKER J.R., BIRD R.G., GARNHAM P.C.C. et HEALEY P. (1961). — Electron micrographs of *Lankesterella* (*Atoxoplasma*) from English sparrows. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **55**, n° 1, p. 9.
- LANDAUER W. (1945). — Rumplessness of chicken embryos produced by the injection of insulin and other chemical. *J. Exp. Zool.*, **98**, p. 65-77.
- LANGER H. (1963). — Repeated Congenital Infection with *Toxoplasma gondii*. *Obst. Gynecol.*, **21**, n° 3, p. 318-329.
- LANOT R. (1962). — Premières réactions au bleu Trypan de l'embryon de Poulet en cours de gastrulation. *C.R. Soc. Biol.*, **156**, n° 5, p. 218-220.
- LANOT R. (1963). — Action de la ribonucléase sur le développement précoce de l'embryon de Poulet. *C.R. Acad. Sci.*, **257**, n° 22, p. 3471-3474.
- LAVERAN A. (1900). — Au sujet de l'Hématozoaire endoglobulaire de *Padda oryzivora*. *C.R. Soc. Biol.*, **52**, p. 19-20.
- LAVERAN A. et MESNIL F. (1899a). — Sur la morphologie des Sarcosporidies. *C.R. Soc. Microbiol.*, **6**, n° 10, p. 245-248.
- LAVERAN A. et MESNIL F. (1899b). — De la Sarcocystine, toxine des Sarcosporidies. *C.R. Soc. Biol.*, **1**, n° 11, p. 311-314.
- LÉVINE N.D. (1961a). — *Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man*. Burgess Publ. Comp. Minneapolis, U.S.A., 412 p.
- LÉVINE N.D. (1961b). — Problems in the Systematics of the "Sporozoa". *J. Protozool.*, **8**, n° 4, p. 442-451.
- LISON L. (1960). — *Histochemie et cytochimie animales*. Gauthier-Villars Editeurs, Paris, vol. I et II, 837 p.
- LOEFFLER K. (1963). — Zur Klinik des Toxoplasmosen. *Zentralbl. f. Veterinärmed.*, **10**, n° 3, p. 235-240.
- LOM J. et DE PUYTORAC P. (1965). — Studies on the Myxosporidian ultrastructure and polar capsule development. *Protistologica*, **1**, n° 1, p. 53-65.
- LUDVIK J. (1956). — Vergleichende elektronenoptische Untersuchungen an *Toxoplasma gondii* und *Sarcocystis tenella*. *Zentralbl. Bakt. Parasitenk. Inf. Hyg.*, **166**, n° 1, p. 60-65.
- LUDVIK J. (1958). — Elektronenoptische Befunde zur Morphologie der Sarcosporidien (*Sarcocystis tenella* RAILLIET, 1886). *Zentralbl. Bakt. Parasitenk. Inf. Hyg.*, **172**, n° 3-4, p. 330-350.
- LUDVIK J. (1959). — Die Silberfibrillenstruktur bei *Toxoplasma gondii* und *Sarcocystis tenella*. *Zeitschr. f. Parasitenk.*, **19**, p. 311-314.
- LUDVIK J. (1960). — The electron microscopy of *Sarcocystis miescheriana* (Kuhn, 1865). *J. Protozool.*, **7**, n° 2, p. 128-135.
- LUDVIK J. (1963a). — Electron microscopic study of some parasitic Protozoa. *Proc. 1st. Intern. Congr. Protozool. Progress in Protozoology*, Prague, p. 387-392, 1961, publié 1963.
- LUDVIK J. (1963b). — Intrazelluläre verhältnisse zwischen den parasitierenden *Toxoplasma*-Zellen und Wirtszellen in verschiedenen infizierten Organen. *Proc. 1st. Intern. Congr. Protozool. Progress in Protozoology*, Prague, p. 370, 1961, publié 1963.
- LUDVIK J. et PIEKARSKI G. (1963). — Einfluss der Antikörper auf die *Toxoplasma*-Zellen im Elektronenmikroskop. *Proc. 1st. Intern. Congr. Protozool.*, *Progress in Protozoology*, Prague, p. 369, 1961, publié 1963.
- LUFT J.H. (1961). — Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. Biophys. Biochim. Cytol.*, **9**, p. 409-414.
- LUND E., LYCKE E. et SOURANDER P. (1963). — Study on cultured cells infected with *Toxoplasma gondii*. *Proc. 1st. Intern. Congr. Protozool. Progress in Protozoology*, Prague, p. 365, 1961, publié 1963.
- LUTZ H. (1958). — Malformations par action du gaz carbonique et les ultrasons chez l'embryon de Poulet. *Congrès de Zoologie, Londres. Proceeding, Londres*, p. 635-637.
- LUTZ H. et LÉPY M. (1958). — Action du gaz carbonique sur le blastoderme non incubé d'Oiseau. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **83**, p. 76-81.
- LUTZ H. et LUTZ-OSTERTAG Y. (1957). — Action des ultrasons sur le blastoderme non incubé d'Oiseau. *Orch. Anat. Micr. Morph. Exp.*, **46**, p. 307-324.
- LUTZ-OSTERTAG Y. et SÉNAUD J. (1966). — Action de l'extrait de Toxoplasmes (toxoplasmine) sur le développement embryonnaire du Poulet. *Arch. Anat. microsc. Morph. exp.*, **55**, n° 3, p. 363-386.

- LYCKE E. et LUND E. (1964). — A tissue culture method for titration of infectivity and determination of growth rate of *Toxoplasma gondii*. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **60**, n° 2, p. 209-220.
- MANDOUR A.M. (1965). — Life history of *Sarcocystis*. 2nd. Intern. Conf. Protozool. Progress in Protozoology. Excerpta Medica Foundation, London, p. 189-190.
- MANGOLD O. (1961). — Freie Linsen in Augenlosen Köpfen und Isolat von *Triturus alpestris*. *Acta Morphol.*, **10**, p. 153-176.
- MANWELL R.D. et DROBECK H.P. (1953). — The behavior of *Toxoplasma* with notes on its taxonomic status. *J. Parasitol.*, **39**, n° 6, p. 577-584.
- MAUMENEE A.E. (1962). — Symposium by the Council for research in Glaucoma and allied Diseases. *Toxoplasmosis, Second symposium on uveitis*, Williams and Wilkins company editors, Baltimore, U.S.A., p. 699-972.
- MELLO U. (1910). — Un cas de toxoplasmose du chien observé à Turin. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, **3**, p. 359-363.
- MESNIL F. (1918). — Analyse de « Notes et réflexions sur le Toxoplasme et la toxoplasmose du Gondi (*Toxoplasma gondii* Ch. NICOLLE et MANCEAUX, 1909) » par CHATTON E. et BLANC G. *Arch. Inst. Past. Tunis*, **10**, n° 1-2, 1917, p. 1-40. — *Bull. Inst. Past.*, **16**, p. 71-73.
- MESNIL F., CHATTON E. et PÉRARD Ch. (1913). — Recherches sur la toxicité d'extraits de Sarcosporidies et d'autres Sporozoaires. *C.R. Soc. Biol.*, **75**, p. 175-178.
- MIESCHER (1843). — Über eigenthümliche Schläuche in den Muskeln einer Hausmaus. *Bericht über die Verhandlungen der naturforschenden Gesellschaft in Basel*, **5**, p. 198-202.
- MIGNOT J.P. (1966). — Structure et ultrastructure de quelques Euglénomonadines. *Protistologica*, **2**, fasc. 3, p. 51-117, 23 pl. h.-t.
- MILLONIG G. (1961). — A modified procedure for lead staining of thin sections. *J. Biophys. Biochim. Cytol.*, **11**, n° 3, p. 736-739.
- MOSSEVITCH T.N. et CHEISSIN E.M. (1961). — Quelques données fournies par la microscopie électronique sur les mérozoïtes d'*Eimeria intestinalis*, parasite des intestins du lapin. *Citologija, S.S.S.R.*, **3**, n° 1, p. 34-39 (en Russe).
- MÜHLFORDT H. (1952). — Das Verhalten Sarcosporidieninfizierter Tiere im Sero-Farbttest auf Toxoplasmose nach Sabin-Feldman. *Zeitschr. f. Tropenmed. Parasitol.*, **3**, p. 205-215.
- NÈGRE L. (1907). — Sarcosporidiose expérimentale. *C.R. Soc. Biol.*, **63**, p. 374-375.
- NÈGRE L. (1910). — Sur le stade intestinal de la Sarcosporidiose de la Souris. *C.R. Soc. Biol.*, **68**, p. 997-998.
- NEUMANN L.G. (1892). — *Traité des maladies parasitaires non microbiennes des animaux domestiques*. Asselin et Houzeau éditeurs, Paris, 767 p.
- NICOLLE Ch. et MANCEAUX L. (1908a). — Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. *C.R. Acad. Sc.*, **147**, p. 763-766.
- NICOLLE Ch. et MANCEAUX L. (1908b). — Sur un Protozoaire nouveau du gondi: *Toxoplasma* (N. gen.). *Arch. Inst. Past. Tunis*, **1**, p. 97-103.
- NICOLLE Ch. et MANCEAUX L. (1909). — Sur un Protozoaire nouveau du Gondi. *C.R. Acad. Sc.*, **148**, n° 6, p. 369-372.
- NOBUTO K., SATO U. et HANAKI T. (1964). — Preparation of the concentrated Skin Test Antigen for porcine Toxoplasmosis (TSC Antigen). *Bull. Off. Int. Epiz.*, **61**, n° 5-6, p. 437-455.
- NOIROT-TIMOTHÉE C. (1960). — Etude d'une famille de Ciliés: les « Ophryoscolecidae ». Structures et ultrastructures. *Ann. des Sc. Nat., Zool., Serie 12*, n° 2, p. 527-718.
- OLISA E.G. (1963). — The fine structure of reproducing *Toxoplasma gondii*. *Parasitology G B*, **53**, p. 643-649.
- PANIGEL M. et NGUYEN H. ANH J. (1964). — Ultrastructure des villosités placentaires humaines. *Pathol. Biol.*, **12**, n° 19-20, p. 927-949.
- PARENZAN P. (1944-1946). — Sarcosporidiosi (Psorospermiosi) da nuova specie (Prot.: *Sarcocystis atractaspidis* n.sp.) in rettile (*Atractaspis*). *Boll. Soc. Natur. In Napoli*, **55**, p. 117-119.
- PERRIER L. (1907). — Structure de la spore de *Sarcocystis tenella* (Railliet) du Mouton et de la Chèvre. *C.R. Soc. Biol.*, **62**, n° 1, p. 478-480.
- PERRIN W.S. (1908). — Note on the possible transmission of *Sarcocystis* by the blow-fly. *Spol. Zeylan*, **5**, p. 57-61.
- PESTRE M., MANDOU L. et NICOLAS J. (1962). — Le mouton, réservoir du virus de la toxoplasmose: recherches sur les possibilités de la transmission de l'agent pathogène. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, **55**, n° 5, p. 789-797.
- PFEIFFER L. (1890). — Ueber einige neue Formen von Miescherschen Schläuchen mit Mikro-, Myxo- und Sarcosporidieninhalt. *Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med.*, **122**, p. 552-573.
- PIEKARSKI G., SCHAFER E. et NIEDERLANDER R. (1961). — Mikroskopische und serologische Studien über die Häufigkeit von *Sarcocystis tenella* bei Schafen. *Zeitschr. f. Parasitenk.*, **20**, p. 479-488.
- PROWAZEK S. (1910). — Parasitische Protozoen aus Japan, gesammelt von Herrn Dr. Mine in Fukuoka. *Arch. f. Schiffs- und Tropen-Hygg.*, **14**, n° 10, p. 297-302.
- PULVERTAFT R.J.V., VALENTINE J.C. et LANE W.F. (1954). — The behaviour of *Toxoplasma gondii* on serum-agar culture. *Parasitology*, **44**, p. 478-484.
- PUYTORAC P. DE (1962). — Observations sur l'ultrastructure de la Microsporidie *Mrazekia lumbriculi*, Jirovec. *J. Microsc.*, **1**, n° 1, p. 39-46.
- RADACOVICI R., ATANASIU M. et COSTIN C. (1962). — Contribution à l'étude expérimentale et le traitement de la toxoplasmose. Infection à la suite de manipulation de matériel virulent. *J. Hyg. Epidémiol. Microbiol. Immunol.*, **6**, p. 89-99.

- RAILLIET A. (1895). — *Traité de Zoologie médicale et agricole*. Asselin et Houzeau Ed., Paris, 1303 p.
- RAINEY G. (1857). — On the structure and development of the *Cysticercus cellulosae*, as found in the muscles of the pig. *Philos. Trans. Roy. Soc. London*, **147**, n° 1, p. 111-127.
- RODHAIN J. (1956). — Un cas de Sarcosporidiose chez un *Psittacidae Eupsittula auricapillus* Licht. *Ann. Par. Hum. Comp.*, **31**, n° 1-2, p. 5-10.
- RUDZINSKA M.A. et TRAGER W. (1961). — The role of the cytoplasm during reproducing in the Malarial parasite (*Plasmodium lophurae*) as revealed by electron microscopy. *J. Protozool.*, **8**, n° 3, p. 307-322.
- SABIN A.B. et FELDMAN H.A. (1948). — Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). *Science*, **108**, p. 660-663.
- SABIN A.B. et OLITSKY P.K. (1937). — *Toxoplasma* and obligate intracellular parasitism. *Science*, **85**, p. 336-338.
- SABIN A.B. et RUCHMAN I. (1942). — Characteristics of the *Toxoplasma* neutralizing antibody. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **51**, n° 1, p. 1-6.
- SANGIORGI G. (1913). — Un nuovo Protozoo parassita del « *Mus musculus* ». *Pathologica*, **5**, n° 100-123, p. 323-325.
- SANGIORGI G. (1914). — « *Toxoplasma ratti* » n. sp. *Giorn. R. Acad. Med. Torino*, **20**, p. 383-385.
- SATO S. (1926). — On the toxic action of sarcosporidiotoxin and its serological study. *Japan Med. World.*, **6**, n° 3, p. 62-64.
- SCHOLTYSECK E. et PIEKARSKI G. (1965). — Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Merozoiten von Eimerien (*Eimeria perforans*) (und *Eimeria stiedae*) und *Toxoplasma gondii*. Zur systematischen Stellung von *T. gondii*. *Zeitschr. f. Parasitenk.*, **26**, p. 91-115.
- SCHUHOVA V., ZAVADOVA H. et STUMPA G. (1963). — Complement fixation *Toxoplasma* antigen prepared in tissue culture. *Proc. 1st. Intern. Congr. Protozool.*, *Progress in Protozoology*, Prague, p. 371-378, 1961, publié 1963.
- SCOTT J.W. (1930). — The *Sarcosporidia*. A critical review. *J. Parasitol.*, **16**, n° 3, p. 111-130.
- SEBEK Z. (1960). — *Sarcocystis* bei des Insekten-fressern und Nagetieren. *Zoologicke Listy, Folia Zoologica*, **9** (23), n° 1, p. 1-6.
- SEBEK Z. (1962). — *Sarcocystis* und M-Organismen bei Insekten-fressern und Nagetieren. *Zoologicke Listy, Folia Zoologica*, **11** (25), n° 4, p. 355-366.
- SEBEK Z. (1963). — *Sarcocystis* und verwandte Organismen bei den Insekten-fressern und Nagetieren. *Proc. 1st. Intern. Congr. Protozool. Progress in Protozoology*, Prague, p. 473-477, 1961 publié 1963.
- SÉNAUD J. (1963a). — Sur l'évolution de l'enveloppe kystique chez la Sarcosporidie du mouton (*Sarcocystis tenella* RAIL.). *Arch. Zool. Exp. Gén.*, **102**, n° 2, p. 227-230.
- SÉNAUD J. (1963b). — Les modalités de la multiplication des éléments cellulaires dans les kystes de la Sarcosporidie du Mouton (*Sarcocystis tenella* RAIL., 1886). *C.R. Acad. Sc.*, **256**, p. 1009-1011.
- SÉNAUD J. (1964). — Sur l'ultrastructure de la membrane nucléaire des « spores » de *Sarcocystis tenella* RAILLET (Sarcosporidie du Mouton). *Arch. Zool. Exp. Gén.*, **104**, n° 2, p. 190-193.
- SÉNAUD J. (1965). — Ultrastructure comparée des endozoïtes de *Sarcocystis tenella* et de *Toxoplasma gondii*. 2nd. Intern. Conf. Protozool. *Progress in Protozoology, Excerpta Medica, Foundation*, London, p. 188.
- SÉNAUD J. (1966). — L'ultrastructure du micropyle des *Toxoplasmasida*. *C.R. Acad. Sc.*, **262**, p. 119-121.
- SÉNAUD J. et PUYTORAC P. DE (1961). — Sur l'ultrastructure de l'enveloppe kystique chez la Sarcosporidie du Mouton (*Sarcocystis tenella* RAIL.). *Ann. Par. Hum. Comp.*, **36**, n° 4, p. 589-594.
- SÉNAUD J. et PUYTORAC P. DE (1962). — Observations complémentaires sur l'ultrastructure de la « spore de *Sarcocystis tenella* RAIL.» (Sarcosporidie du Mouton). *C.R. Soc. Biol.*, **156**, n° 10, p. 1630-1633.
- SÉNAUD J. et PUYTORAC P. DE (1964). — Observation de la Sarcosporidie du Léopard (*Lacerta muralis*). *Arch. Zool. Exp. Gén.*, **104**, n° 2, p. 182-186.
- SERGEANT E. (1921). — Sur l'hypothèse de l'évolution des *Sarcocystis* du bœuf chez un Insecte hématophage, hôte définitif. *C.R. Soc. Biol.*, **2**, p. 408-411.
- SHEFFIELD H.G. et HAMMOND D.M. (1965). — The fine structure of first generation merozoïtes of *Eimeria bovis*. 2nd. Intern. Conf. Protozool. *Progress in Protozoology, Excerpta Medica, Foundation*, London, p. 157.
- SHEFFIELD H.G. et HAMMOND D.M. (1966). — Fine structure of first-generation merozoïtes of *Eimeria bovis*. *J. of Parasitol.*, **52**, n° 3, p. 595-606.
- SIMITCH T., PETROVITCH Z., BORDJOCHKI A. et SAVIN Z. (1964). — Infection de l'oie per os, par la forme kystique et la forme végétative de *Toxoplasma gondii*. *Rec. Méd. Vét. Ecole d'Alfort*, **140**, p. 27-31.
- SMITH Th. (1905). — The production of Sarcosporidiosis in the mouse by feeding infected muscular tissue. *J. Exp. Med.*, **6**, p. 1-21.
- SPINDLER L.A. (1947). — A note on the fungoid nature of certain internal structures of Miescher's sacs (*Sarcocystis*) from a naturally infected sheep and a naturally infected duck. *Proc. Helminth. Soc. Washington*, **14**, n° 1, p. 28-30.
- SPINDLER L.A. et ZIMMERMAN H.E. (1945). — The biological status of *Sarcocystis*. *J. Parasitol.*, **31**, suppl. 24.
- SPLENDORE A. (1909a). — Sur un nouveau Protozoaire parasite du lapin. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, **2**, p. 462-465.
- SPLENDORE A. (1909b). — Sopra un nuovo parassita de conigli. *Rev. Soc. Scient. Sao-Paulo*, **4**, p. 75-79.
- SPLENDORE A. (1913). — Des formes flagellées et des gamètes dans le *Toxoplasma cuniculi*. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, **6**, p. 318-323.

- STADTSEADER S., TELLIER-VERHEYDEN N. et WEBER G.M. (1964). — Diagnostic sérologique de la toxoplasmose par l'immunofluorescence. *Acta clin. Belgica*, **19**, n° 3, p. 161-166.
- STEBBENS W.E. (1966). — The ultrastructure of *Lankesterella hylae*. *J. Protozool.*, **13**, n° 1, p. 63-73.
- STEPHAN F. et SUTTER B. (1961). — Réaction de l'embryon de Poulet au bleu Trypan. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, G.B., **9**, n° 3, p. 410-421.
- TEICHMANN E. et BRAUN H. (1911). — Über ein Protozoentoxin (Sarkosporidiotoxin). *Arch. f. Protist.*, **22**, p. 351-365.
- THALHAMMER O. (1962). — Congenital Toxoplasmosis. *The Lancet*, **1**, n° 7219, p. 23-24.
- TIEGS O.W. (1931). — Note on the occurrence of *Sarcocystis* in muscle of Python. *Parasitology*, **23**, p. 412-414.
- TORRÈS C.M. (1927a). — Affinités de l'*Encephalitozoon chagasi*, agent étiologique d'une méningo-encéphalomyélite congénitale avec myocardite et myosite chez l'homme. *C.R. Soc. Biol.*, **97**, p. 1197-1799.
- TORRÈS C.M. (1927b). — Morphologie d'un nouveau parasite de l'homme, *Encephalitozoon chagasi* n.sp., observé dans un cas de méningo-encéphalo-myélite congénitale avec myosite et myocardite. *C.R. Soc. Biol.*, **97**, p. 1787-1790.
- TORRÈS C.M. (1928). — Sobre uma nova entidade morbida do homem, caracterizada por meningo-encephalo-myelitis, myositis e myocarditis aguda diffusa congenitas, associadas a presença, nos respectivos tecidos, de um novo parasito, *Encephalitozoon chagasi*, M. TORRÈS, 1927. *Brasil, Med.*, **42**, n° 1, p. 1-4.
- TRINCI G. (1911). — Note sopra una *Sarcocystis* parassita di *Gangylus ocellatus* WAGL., con considerazioni critiche sulla morfologia e sulla biologia dei Sarkosporidi. *Monit. Zool. Italiano*, **22**, p. 309-326.
- TRIPOD J., STUDER A., MEIER R. (1957). — Experimental differentiation of inhibition of the central nervous system. *Arch. int. Pharmacodyn.*, **112**, p. 319-341.
- VALLÉE A., GROULADE P., LEVADITI J.C., DESMONTS G. et VIRAT J. (1961). — Contribution à l'étude de la toxoplasmose du chien. *Bull. Acad. Vét.*, **34**, p. 43-52.
- VAN THIEL P.H. (1956). — The taxonomic Status of *Toxoplasma gondii*. *J. Microbiol. Serol.*, **22**, p. 248-256.
- VERMEIL C., TUSQUES R., ANDRÉ M.J. et REHEL H. (1965). — Etude au microscope électronique de l'ultrastructure des toxonèmes de *Toxoplasma gondii*, leur modification sous l'action lytique des anticorps antitoxoplasmiques. *C.R. Acad. Sc.*, **261**, p. 1384-1387.
- VIVIER E. et HENNÈRE E. (1965). — Ultrastructure des stades végétatifs de la Coccidie *Coelotropha durchoni*. *Protistologica*, **1**, n° 1, p. 89-104.
- VUILLEMIN P. (1902). — Le *Sarcocystis tenella*, parasite de l'homme. *C.R. Acad. Sc.*, **134**, p. 1152-1154.
- WANKO T., JACOBS L. et GAVIN M.A. (1962). — Electron microscope study of *Toxoplasma* cysts in mouse brain. *J. Protozool.*, **9**, n° 2, p. 235-242.
- WARREN J. et RUSS S.B. (1948). — Cultivation of *Toxoplasma* in embryonated egg. An Antigen derived from chorioallantoic membrane. *Proc. Soc. Exp. Biol. Méd.*, **67**, p. 85-89.
- WARREN J. et SABIN A.B. (1942). — The complement fixation reaction in toxoplasmic infection. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **51**, n° 1, p. 11-14.
- WATSON M.L. (1954). — Pores in the mammalian nuclear membrane. *Biochim. Biophys. Acta*, **15**, n° 4, p. 475-479.
- WATSON M.L. (1955). — The nuclear envelope. Its structure and relation to cytoplasmic membranes. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **1**, n° 3, p. 257-270.
- WATSON M.L. (1960). — Electron microscopy of the nuclear envelope. *Cell Physiology of neoplasia*, Austin U.S.A., p. 129-157.
- WEBER A. (1909a). — Altérations des fibres musculaires striées sous l'influence des Sarkosporidies. *C.R. Soc. Biol.*, **1**, p. 566-568.
- WEBER A. (1909b). — Sur la morphologie de la Sarkosporidie du Gecko (*Sarcocystis platydactyli* Bertram). *C.R. Soc. Biol.*, **66**, p. 1061-1062.
- WILDFÜHR W. (1964). — Elektronenmikroskopische Untersuchungen an *Toxoplasma gondii*. *Zeitschr. f. Ges. Hyg. u. Grenzgeb.*, **10**, n° 8, p. 541-146.
- WISCHNITZER S. (1958). — An electron microscope study of the nuclear envelope of amphibian oocytes. *J. Ultrastruct. Res.*, **1**, n° 3, p. 201-222.
- WOLF A. et COWEN D. (1937). — Granulomatous encephalomyelitis due to an *Encephalitozoon* (*Encephalitozoic encephalomyelitis*). *Bull. Neurol. Inst. New-York*, **6**, p. 306-371.
- WOLF A., COWEN D. et PAIGE M.D. (1939). — Toxoplasmic encephalomyelitis. 3. A new case of granulomatous encephalomyelitis due to a *Protozoon*. *Amer. J. Pathol.*, **15**, n° 6, p. 657-694.
- WOLFF E. (1936). — Les bases de la tératogénèse expérimentale des Vertébrés Amniotes, d'après les résultats des méthodes directes (Thèse). *Arch. Anat. Histol. Embryol.*, **22**, p. 1-382.
- ZASTERA M., HUBNER J. et POKORNY J. (1962). — A proposal for a standardization of Sabin-Feldman dye test for Toxoplasmosis. *Cs. Epidemiol. Mikrobiol. Immunol.*, **9**, n° 2, p. 122-126.

LÉGENDE DES PLANCHES

PLANCHE I

- FIG. 1. — *Sarcocystis tenella* : coupe longitudinale d'un kyste de stade intermédiaire montrant les villosités digitiformes (flèche). $\times 400$.
- FIG. 2. — *Sarcocystis tenella* : coupe tangentielle de l'extrémité d'un kyste de stade intermédiaire. Noter la disposition en quinconce des villosités (flèche). $\times 230$.
- FIG. 3. — *Sarcocystis platydactyli* : villosités (flèche) de la paroi du kyste (d'après une préparation de CHATTON). $\times 1000$.
- FIG. 4. — Paroi du kyste de *Sarcocystis lacertae* montrant l'ensemble des villosités (flèche). $\times 2500$.
- FIG. 5. — Villosité (flèche) en forme de massue de la paroi du kyste de *Sarcocystis lacertae*. $\times 2000$.
- FIG. 6. — Coupe d'un kyste de Gilruth (*Globidium leukarti*) montrant les villosités (flèche) hérissant la paroi de la cellule hôte (d'après une préparation de CHATTON). $\times 2800$.
- FIG. 7. — Coupe transversale de la zone corticale d'un kyste mûr de *Sarcocystis tenella* : la strate interne (S1) porte les villosités en crampons (V) implantées dans la strate musculaire (S2). Me : métrocytes; Tr : travées. $\times 2000$.
- FIG. 8. — *Sarcocystis tenella* : la strate conjonctive (S3) de la paroi d'un kyste mûr est APS positive. $\times 1000$.
- FIG. 9. — *Sarcocystis tenella* : zone corticale d'un kyste mûr après coloration à la fuchsine d'Altmann. G : grains moyens des endodyocytes; S1 : strate interne portant les villosités (V); Tr : travées. $\times 1000$.

PLANCHE II

- FIG. 10. — *Sarcocystis tenella* : coupe tangentielle de la paroi d'un kyste mûr montrant les villosités en crampon (flèche). Me : métrocytes; Tr : travées. $\times 1200$.
- FIG. 11. — *Sarcocystis tenella* : coupe tangentielle de la région corticale d'un kyste mûr montrant les métrocytes (flèche). $\times 700$.
- FIG. 12. — Coupe transversale d'un kyste de *Sarcocystis tenella* en voie de calcification. Noter la structure concentrique de la couche fibreuse (1), les macrophages (2), et les zones de calcification (flèches). $\times 80$.
- FIG. 13. — Coupe d'un kyste de *Sarcocystis tenella* en voie de calcification montrant la couche fibreuse (1), et des foyers de nécrose (3). $\times 120$.
- FIG. 14. — *Sarcocystis tenella* : endodyocytes en forme de banane (in vivo) dont les grains moyens sont très réfringents. $\times 1000$.
- FIG. 15. — Kyste de *Toxoplasma gondii* dans le cerveau d'un Lièvre (d'après une préparation du Professeur JIROVEC). $\times 900$.

PLANCHE III

- FIG. 16. — Coupe sagittale de l'enveloppe d'un kyste mûr. La strate interne (S1) porte les villosités en crampon (V) implantées dans la strate musculaire (S2) nucléée (N) dont les myofibrilles (My) et les mitochondries (Mi) sont dissociées. Al : structure alvéolaire de la paroi des villosités; Pv : pédoncule de villosité; S3 : strate externe conjonctive; Tu : tubules des villosités; Va : vacuole. $\times 14\ 000$.

PLANCHE IV

- FIG. 17. — Villosité pédiculée (Pv) de l'enveloppe kystique de *Sarcocystis tenella* montrant les tubules (Tu) disposés en gerbe, entre lesquels sont disséminés des grains osmiophiles (Gr). S1 : strate interne; S2 : strate musculaire. $\times 20\ 000$.
- FIG. 18. — Structure alvéolaire de la paroi de villosités des kystes mûrs de *Sarcocystis tenella*. $\times 60\ 000$.
- FIG. 19. — Coupe de la base des villosités de l'enveloppe kystique de *Sarcocystis tenella* montrant la disposition entrecroisée des tubules (flèches). $\times 48\ 000$.
- FIG. 20. — Coupe d'une villosité de l'enveloppe kystique de *Sarcocystis tenella*. La membrane hérissée de fins prolongements (flèches) est doublée d'un épiplasma dense (Ep). Noter également la structure hétérogène des tubules (Tu). $\times 60\ 000$.

PLANCHE V

- FIG. 21. — Constitution de l'enveloppe kystique de *Sarcocystis tenella*. La strate musculaire (S2) est doublée d'une strate fibrillaire de nature conjonctive (S3). $\times 30\ 000$.
- FIG. 22. — Strate musculaire de l'enveloppe kystique de *Sarcocystis tenella* : la vacuolisation (Va) de cette couche est un peu plus poussée que dans la fig. 16. Mi : mitochondries; My : myofibrilles; V : villosité de la strate interne. $\times 20\ 000$.
- FIG. 23. — *Sarcocystis tenella* : évolution de la strate musculaire. Les mitochondries (Mi) sont elles-mêmes vacuolisées. My : myofibrilles très désorganisées; Va : vacuole. $\times 28\ 000$.

PLANCHE VI

- FIG. 24. — Métrocytes de *Sarcocystis tenella* : leur membrane cellulaire (M) présentant un micropyle (Mp), est directement en contact avec le matériau constituant les travées (Tr). Le noyau (N) contient un nucléole (n). Les mitochondries (Mi), les plages de paraglycogène (Gl), le Golgi (Go) et le *reticulum* endoplasmique (E) sont disséminés dans le hyaloplasme. Mn : membrane nucléaire. $\times 25\ 000$.
- FIG. 25. — Appareil de Golgi (flèche) d'un métrocyte de *Sarcocystis tenella*. $\times 26\ 000$.
- FIG. 26. — *Sarcocystis tenella* : coupe tangentielle d'un noyau de métrocyte montrant les pores nucléaires (flèches). $\times 30\ 000$.

PLANCHE VII

- FIG. 27. — *Sarcocystis tenella* : endodyocyte en voie de destruction dans une loge de la partie centrale d'un kyste. $\times 20\ 000$.
- FIG. 28. — *Sarcocystis tenella* : scissiparité des métrocytes. Noter l'invagination de la membrane cellulaire (M). Seul l'un des noyaux (N) est visible. Mi : mitochondrie. $\times 22\ 000$.
- FIG. 29. — Scissiparité des métrocytes de *Sarcocystis tenella* : les invaginations de la membrane cellulaire (M) ont isolé trois cellules avec leur noyau (N). Gl : paraglycogène; Mi : mitochondrie. $\times 18\ 000$.

PLANCHE VIII

- FIG. 30. — Endodyogénèse des hétérométrocytes de *Sarcocystis tenella* : seule la région apicale (avec son conoïde : C) de l'un des deux endodyocytes fils est visible à l'intérieur de la cellule initiale présentant de nombreuses plages de paraglycogène (Gl.). $\times 24\ 000$.
- FIG. 31. — Endodyogénèse des hétérométrocytes de *Sarcocystis tenella* : coupe au niveau des noyaux (N) des deux endodyocytes fils encore incomplètement enveloppés par leur membrane cellulaire (M). $\times 17\ 000$.
- FIG. 32. — *Toxoplasma gondii* : scissiparité multiple. Les profondes invaginations de la membrane cellulaire (M) isolent plusieurs cellules (Ce) avec leur noyau (N), leurs sarconèmes (S), leurs rhoptries (Rh), leurs mitochondries (Mi). Noter également les fibres sous-pelliculaires (Fs). $\times 32\ 000$.
- FIG. 33. — *Sarcocystis tenella* : détail de la paroi des métrocytes. La membrane unitaire de la cellule est constituée de deux feuillets (m1 et m2) et doublée d'un strate sous-pelliculaire (St). $\times 100\ 000$.

PLANCHE IX

- FIG. 34. — Toxoplasmes intracellulaires, envacuolés dans une cellule de l'exsudat péritonéal de Souris. $\times 15\ 000$.
 FIG. 35. — Toxoplasmes libres de l'exsudat péritonéal de Souris. $\times 15\ 000$.
 FIG. 36. — Détail de la paroi des cellules de *Toxoplasma gondii*. La membrane unitaire formée de deux feuillets (m1 et m2) est doublée d'une strate sous-pelliculaire (St). $\times 90\ 000$.

PLANCHE X

- FIG. 37. — *Sarcocystis tenella*: le tiers antérieur de l'endodyocyte terminé par un mucron (Mu) contenant le conoïde (C), est rempli d'organites en forme de navettes sur coupe longitudinale: les sarconèmes (S); G: granule lipidique; Mp: micropyle. $\times 36\ 000$.
 FIG. 38. — Coupe tangentielle de la région antérieure de l'endodyocyte de *Sarcocystis tenella* montrant les pédoncules des rhoptries (P) entourés de l'anneau concentrique (A) d'où partent les fibres sous-pelliculaires (Fs). $\times 45\ 000$.
 FIG. 39. — Détail de la paroi des endodyocytes de *Sarcocystis tenella*: la membrane unitaire est formée de deux feuillets (m1 et m2) et doublée d'une strate sous-pelliculaire (St). $\times 90\ 000$.
 FIG. 40. — *Sarcocystis tenella*: coupe transversale du tiers antérieur d'un endodyocyte montrant la disposition des sarconèmes alignés en quinconce et arrangés en rideaux parallèles. $\times 40\ 000$.
 FIG. 41. — *Sarcocystis tenella*: coupe transversale d'un endodyocyte. Noter la structure tubulaire des fibres sous-pelliculaires (flèches). $\times 80\ 000$.
 FIG. 42. — Détail d'un rideau de sarconèmes de *Sarcocystis tenella* montrant les liaisons entre différents sarconèmes (flèche). $\times 34\ 000$.
 FIG. 43. — *Sarcocystis tenella*: fibres sous-pelliculaires avec leur structure de fibrilles spiralées (flèche). $\times 60\ 000$.

PLANCHE XI

- FIG. 44. — *Sarcocystis tenella*: coupe sagittale du micropyle. Le feuillet m1 de la membrane cellulaire devient moins dense au fond de la cupule. Cm: coupe d'un canal; Cyt: cytoplasme dense. $\times 72\ 000$.
 FIG. 45. — *Sarcocystis tenella*: coupe oblique du micropyle (Mp) qui se prolonge par des canaux (Cm) dans le cytoplasme. $\times 36\ 000$.
 FIG. 46. — *Sarcocystis tenella*: coupe transversale du micropyle. Les deux anneaux (a1 et a2) sont reliés l'un à l'autre par des microfibrilles (flèche) et ancrés dans le cytoplasme (double flèche). $\times 100\ 000$.
 FIG. 47. — *Sarcocystis tenella*: coupe transversale du fond de la cupule. M: membrane cellulaire invaginée limitant un cytoplasme plus dense (Cyt). $\times 36\ 000$.
 FIG. 48. — *Sarcocystis tenella*: coupe tangentielle profonde montrant les canaux (Cm) entourés de cytoplasme dense (Cyt). $\times 36\ 000$.
 FIG. 49. — *Toxoplasma gondii*: coupe sagittale de la région antérieure de la cellule montrant l'invagination de la membrane cellulaire en un micropyle (Mp), le conoïde (C) et les rhoptries (Rh). $\times 35\ 000$.
 FIG. 50. — *Toxoplasma gondii*: coupe tangentielle de la paroi de la cellule. Le micropyle est entouré des deux anneaux concentriques (a1 et a2). Noter la présence de fibres sous-pelliculaires (Fs). $\times 30\ 000$.

PLANCHE XII

- FIG. 51. — *Sarcocystis tenella* : coupe longitudinale de l'apex de la cellule montrant le conoïde (C) surmonté des deux anneaux (A1 et A2) et traversé par les pédoncules (P) des rhoptries. $\times 64\,000$.
- FIG. 52. — *Sarcocystis tenella* : coupe tangentielle du mucron de l'endodyocyte. Noter l'hétérogénéité du conoïde (C). $\times 64\,000$.
- FIG. 53. — *Toxoplasma gondii* : le conoïde (C) enfoncé dans la cellule, surmonté des deux anneaux (A1 et A2) est circonscrit à son sommet par l'anneau (A) d'où partent les fibres sous-pelliculaires. S : sarconèmes. $\times 30\,000$.
- FIG. 54. — *Toxoplasma gondii* : le conoïde (C) logé dans un mucron surmonté des mêmes anneaux (fig. 53), est circonscrit à sa base par l'anneau (A) d'où partent les fibres sous-pelliculaires. S : sarconèmes. $\times 30\,000$.
- FIG. 55. — *Toxoplasma gondii* : coupe tangentielle de l'apex de l'endodyocyte dont le conoïde (C) apparaît nettement strié obliquement et surmonté des deux anneaux (A1 et A2). $\times 39\,000$.
- FIG. 56. — *Sarcocystis tenella* : coupe transversale de l'apex de l'endodyocyte. Les pédoncules (P) des rhoptries traversent le conoïde (C) ancré dans le cytoplasme par des microfibrilles (flèche). Les fibres sous-pelliculaires partent de l'anneau (A). $\times 40\,000$.
- FIG. 57. — *Sarcocystis tenella* : coupe tangentielle du mucron de l'endodyocyte. C : conoïde; Fs : 22 fibres sous-pelliculaires. $\times 55\,000$.
- FIG. 58. — *Toxoplasma gondii* : coupe transversale du mucron de l'endodyocyte. A : anneau d'où partent les 22 fibres sous-pelliculaires (Fs); C : conoïde. $\times 50\,000$.

PLANCHE XIII

- FIG. 59. — Coupe transversale du conoïde (C) ancré dans le cytoplasme (flèche) et entouré des 22 fibres sous-pelliculaires, chez *Sarcocystis tenella*. $\times 63\,000$.
- FIG. 60. — Coupe transversale du conoïde (C) ancré dans le cytoplasme (flèche) et entouré des 22 fibres sous-pelliculaires chez *Toxoplasma gondii*. $\times 42\,000$.
- FIG. 61. — Coupe transversale de l'endodyocyte de *Sarcocystis tenella*, en arrière du conoïde. Noter les tout premiers sarconèmes (S) et les 22 fibres sous-pelliculaires (Fs). $\times 45\,000$.
- FIG. 62. — Coupe transversale de l'endodyocyte de *Toxoplasma gondii* au niveau de la base du conoïde (C) entouré des sarconèmes (S) et des 22 fibres sous-pelliculaires (Fs). $\times 35\,000$.
- FIG. 63. — *Sarcocystis tenella* : coupe sagittale de la moitié antérieure de l'endodyocyte. Noter les quelques rhoptries (Rh) dont l'une se prolonge par son pédoncule (P) jusqu'à l'apex de la cellule (Mu). $\times 35\,000$.

PLANCHE XIV

- FIG. 64. — *Sarcocystis tenella* : coupe sagittale de la région antérieure de l'endodyocyte montrant la structure apparemment tubulaire des pédoncules (P) des rhoptries. C : conoïde; S : sarconèmes. $\times 36\,000$.
- FIG. 65. — *Toxoplasma gondii* : les rhoptries (Rh) convergent par leur pédoncule (P) vers l'apex de la cellule, à travers le conoïde (C). $\times 32\,000$.
- FIG. 66. — Le *reticulum* endoplasmique chez *Sarcocystis tenella*. $\times 45\,000$.
- FIG. 67. — Plusieurs saccules de *reticulum* endoplasmique (E) enveloppent un globule deutoplasmique chez *Toxoplasma gondii*. $\times 28\,000$.
- FIG. 68. — *Sarcocystis tenella* : granule lipidique (flèche) entouré de *reticulum*. Noter les villosités claviformes de la mitochondrie (Mi). $\times 36\,000$.
- FIG. 69. — *Sarcocystis tenella* : coupe tangentielle de la surface du noyau montrant les pores nucléaires représentés par un granule central circonscrit par 8 épaississements de la soudure des feuillettes de la membrane nucléaire. $\times 75\,000$.
- FIG. 70. — Coupe transversale d'un noyau d'endodyocyte de *Sarcocystis tenella*. Noter le nucléole (n) et les deux feuillettes de la membrane nucléaire (Mn) percée de pores (Pn). $\times 45\,000$.

PLANCHE XV

- FIG. 71. — Coupe sagittale d'un endodyocyte de *Toxoplasma gondii* montrant la région du conoïde (C), les plages de paraglycogène (Gl), les rhoptries (Rh), le chondriome (Mi). $\times 34\ 000$.
- FIG. 72. — Coupe d'un endodyocyte de *Sarcocystis tenella*. Dans la mitochondrie ramifiée, les microvillosités très serrées présentent souvent en leur centre, un petit granule (flèche). Gl : paraglycogène. $\times 30\ 000$.
- FIG. 73. — Appareil de Golgi (Go) et paraglycogène (Gl) dans un endodyocyte de *Sarcocystis tenella*. E : *reticulum* endoplasmique. $\times 39\ 000$.
- FIG. 74. — Appareil de Golgi (Go) situé au-dessus du noyau (N) contenant le nucléole (n) chez *Toxoplasma gondii*. Les mitochondries (Mi) de la cellule hôte sont intimement accolées à la vacuole contenant le parasite. C : conoïde; G : globules lipidiques; P : pédoncule de rhoptrie (Rh). $\times 30\ 000$.

PLANCHE XVI

- FIG. 75. — Endodyogénèse d'un endodyocyte de *Sarcocystis tenella*. A l'intérieur de la cellule initiale, 2 portions de membrane cellulaire (M) englobent partiellement chacune une portion nucléaire (N) dont l'une est encore surmontée par un centrocône (flèche). $\times 26\ 000$.
- FIG. 76. — *Sarcocystis tenella*. début de formation des centrocônes. Noter les deux amas de substance dense (flèches) qui, en s'écartant, vont orienter la division. $\times 55\ 000$.
- FIG. 77. — *Sarcocystis tenella* : centrocône montrant les fibres constitutives présentant une alternance de bandes claires et sombres. $\times 48\ 000$.
- FIG. 78. — Endodyogénèse d'un endodyocyte de *Sarcocystis tenella*. Noter les conoïdes de la cellule initiale (C1) et de l'une des cellules filles (C2), les sarconèmes désorganisés (S), les fibres sous-pelliculaires (flèches). $\times 24\ 000$.

PLANCHE XVII

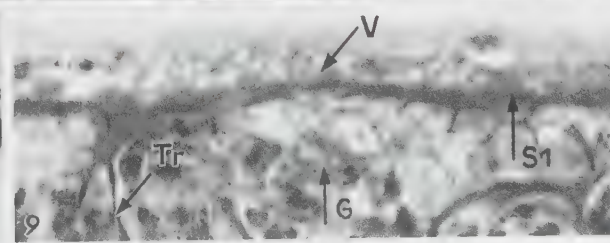
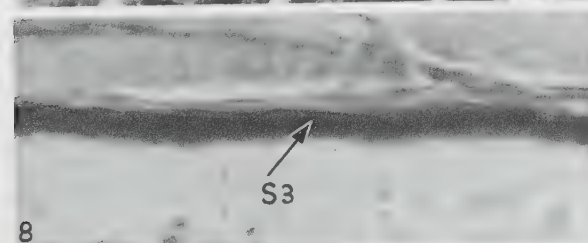
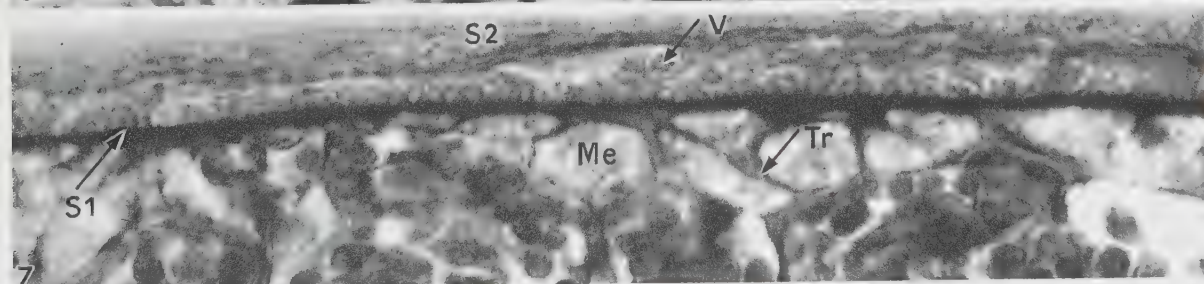
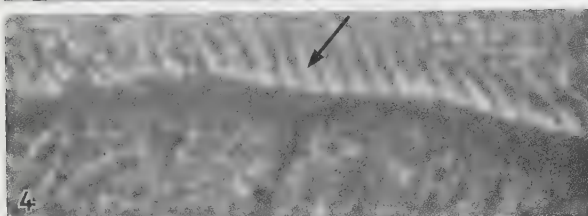
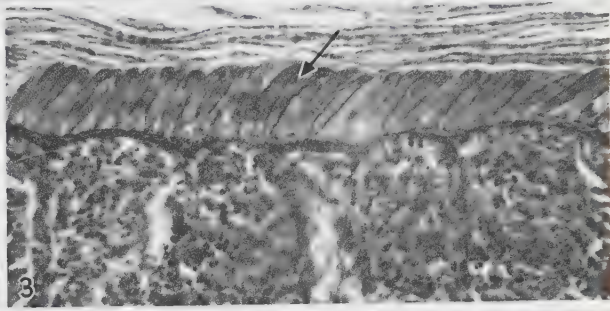
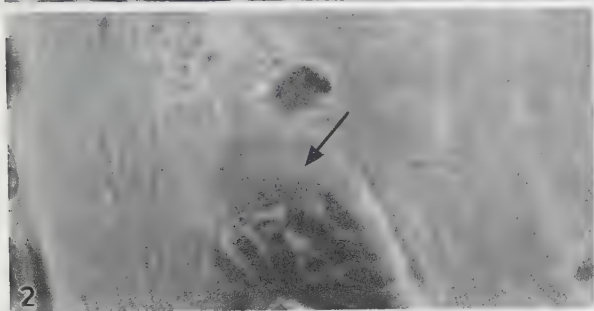
- FIG. 79. — Mise en liberté des deux endodyocytes fils (En 1, En 2) par éclatement de l'endodyocyte initial (En) chez *Sarcocystis tenella*. N : noyau; S : sarconèmes. $\times 23\ 000$.
- FIG. 80. — *Sarcocystis tenella* : détail de la structure fibrillaire (flèche de la substance constitutive des travées de la zone centrale du kyste. Noter les débris (vésicules, membranes) disséminés dans les loges. $\times 42\ 000$.

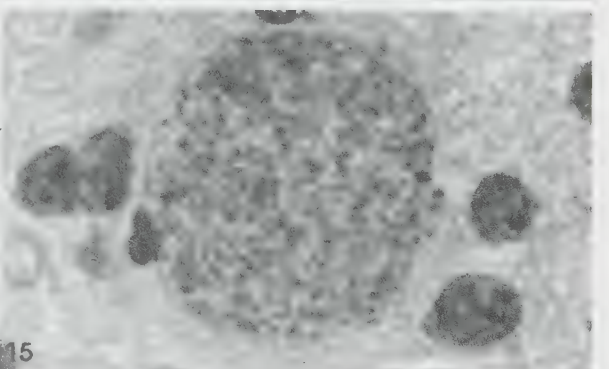
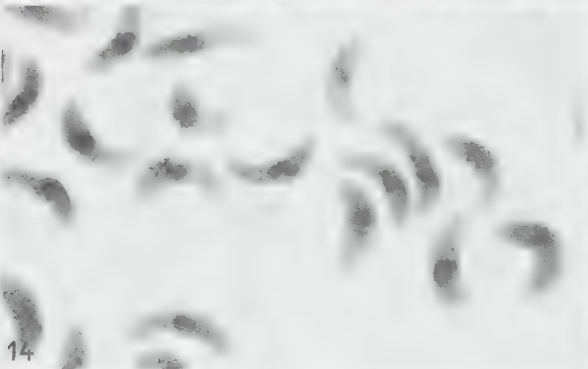
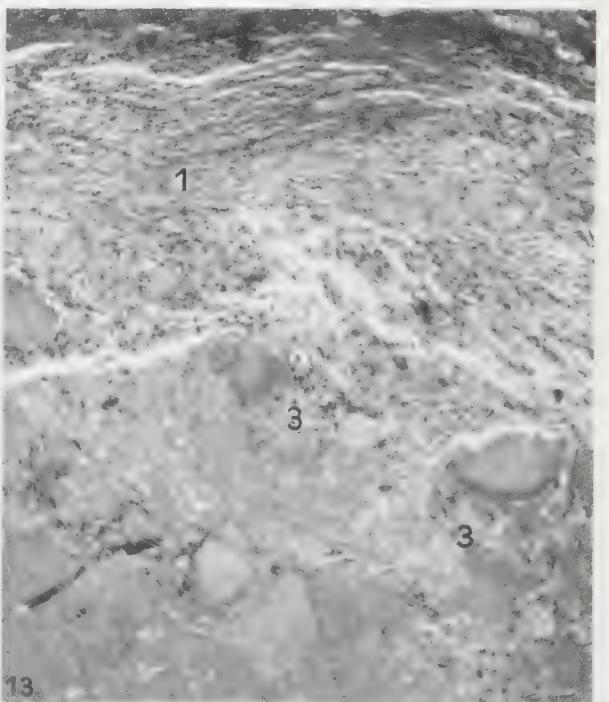
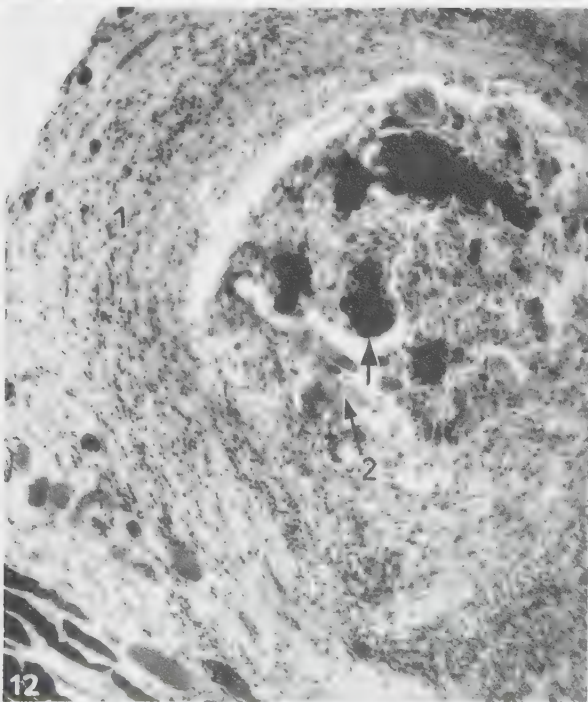
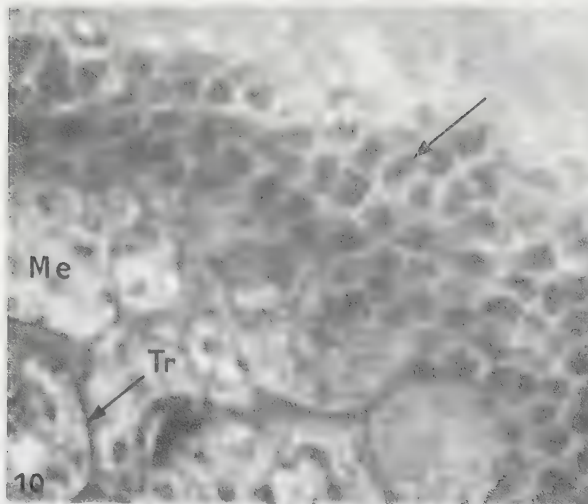
PLANCHE XVIII

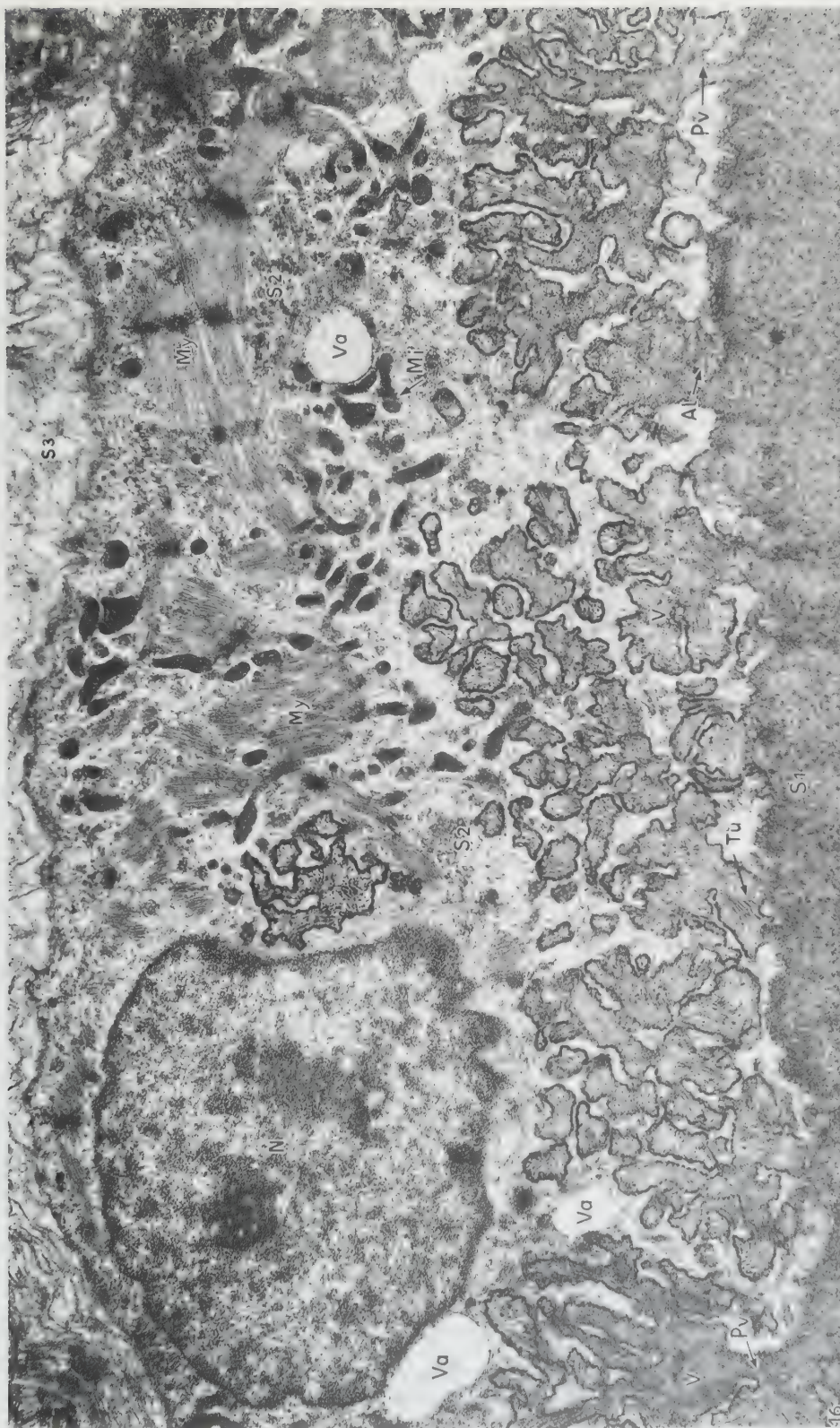
- FIG. 81 et 82. — Coupes sériées montrant le début de l'endodyogénèse chez *Toxoplasma gondii*. Enveloppés par les capuchons discontinués de la membrane cellulaire (M), les conoïdes fils (C1 et C2) associés aux rhoptries (Rh) surmontent le matériel nucléaire en fer à cheval (N1 et N2) dont l'une des branches (N1) est coiffée d'un centrocône. $\times 25\ 000$.
- FIG. 83. — *Toxoplasma gondii* : fin de l'endodyogénèse. Les 2 endodyocytes fils (En 1 et En 2) avec chacun leur noyau (N1, N2) pourvu de nucléole (n) sont isolés à l'intérieur du cytoplasme de la cellule initiale (Ce). Go : Golgi; Mi : mitochondrie. $\times 32\ 000$.

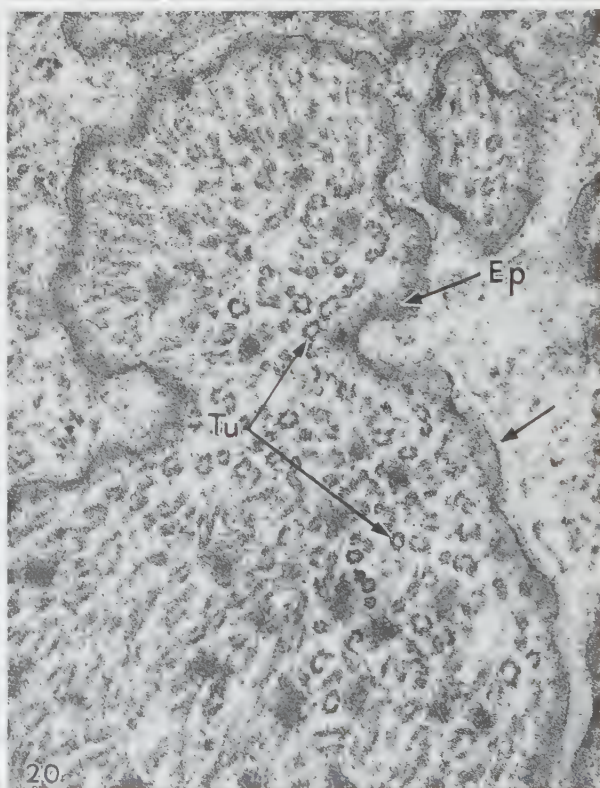
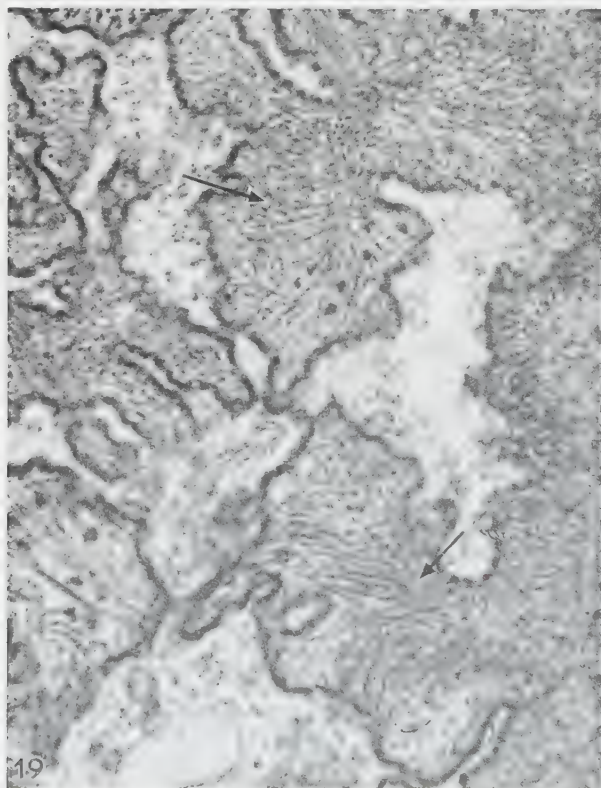
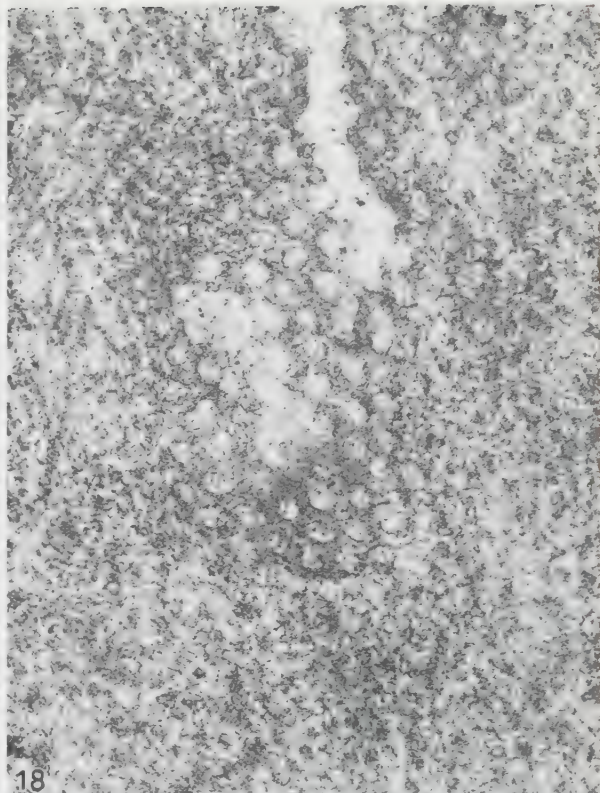
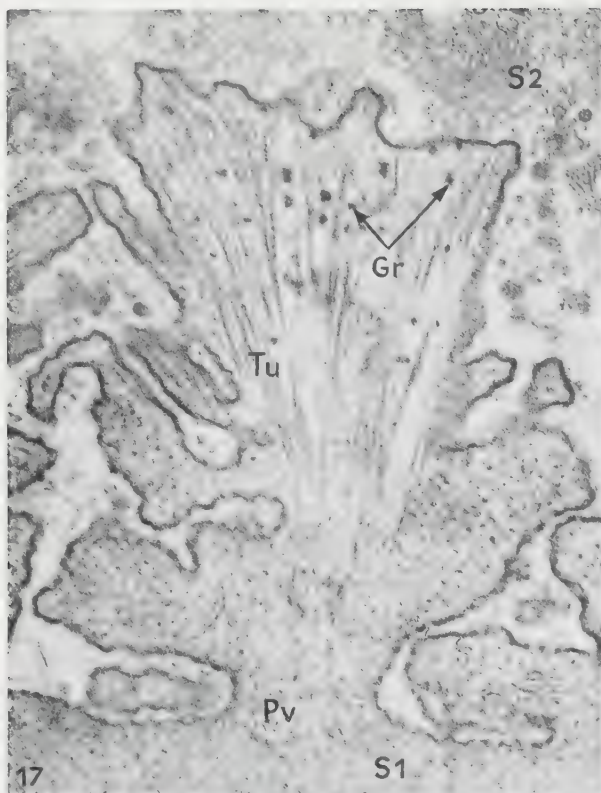
PLANCHE XIX

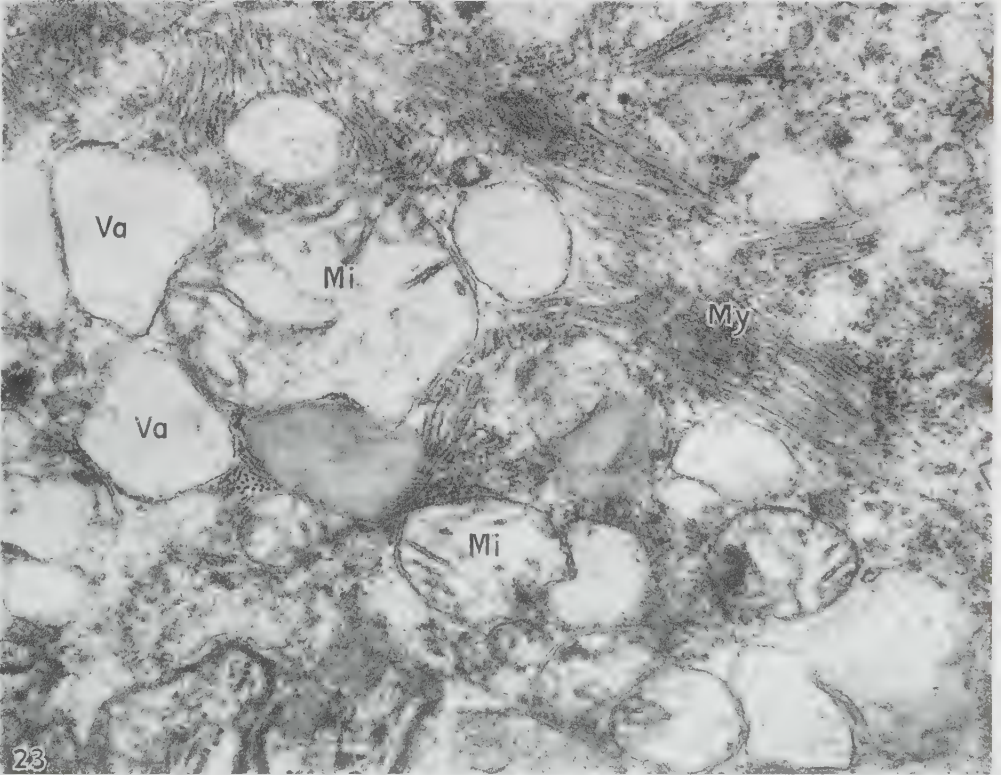
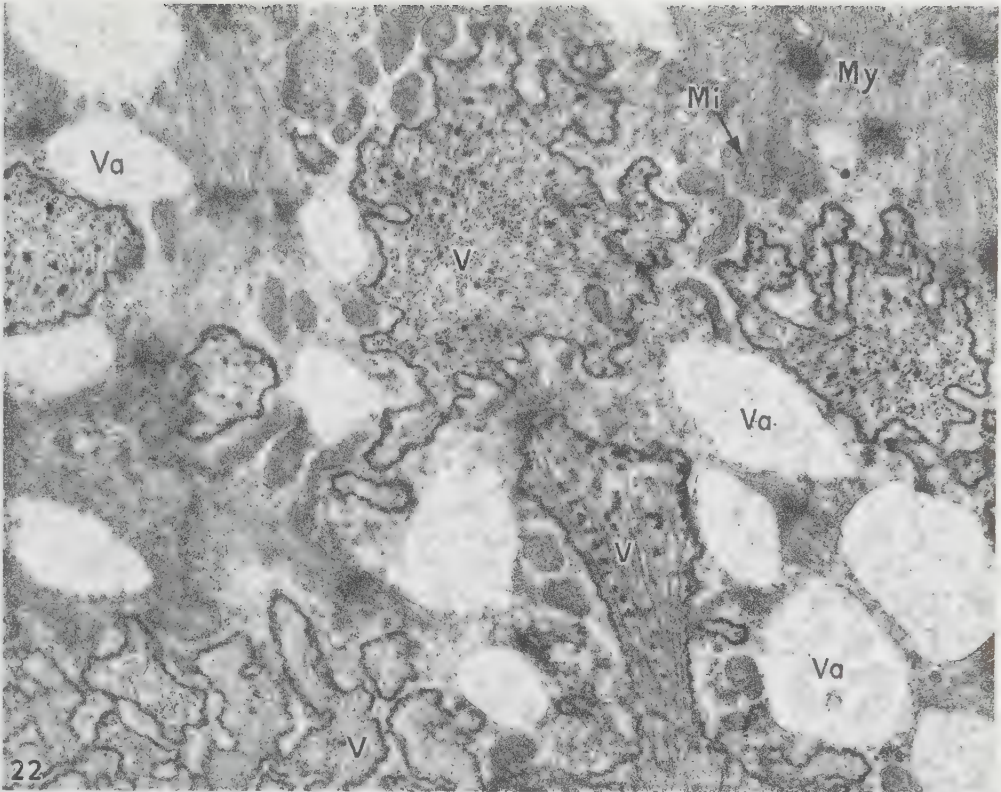
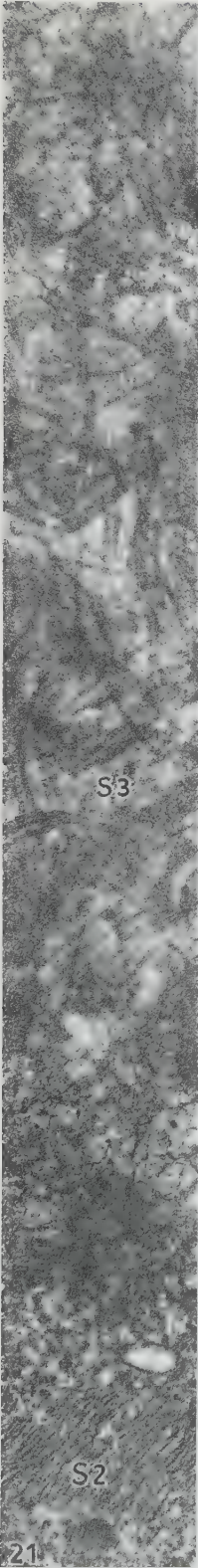
- FIG. 84. — *Toxoplasma gondii* : l'un des endodyocytes fils (En 1) avec son noyau (N1) est disposé tête-bêche par rapport à l'autre dont on ne voit que le noyau (N2), à l'intérieur de la cellule initiale (Ce). C : région du conoïde. $\times 31\ 000$.
- FIG. 85. — Mise en liberté des deux endodyocytes fils (En 1 et En 2) par éclatement de la cellule initiale (Ce) chez *Toxoplasma gondii*. C : conoïde; N : noyau. $\times 22\ 000$.
- FIG. 86. — *Toxoplasma gondii* : dans la vacuole (V) de la cellule hôte, entre les endodyocytes (En) est disséminé un ensemble de structures fibrillaires (flèches). $\times 20\ 000$.
- FIG. 87. — *Toxoplasma gondii* : endodyocyte parasitant le noyau d'une cellule hôte. Le parasite est directement en contact avec le nucléoplasme (flèches). Go : Golgi; N : noyau du parasite; Rh : rhoptries. $\times 20\ 000$.

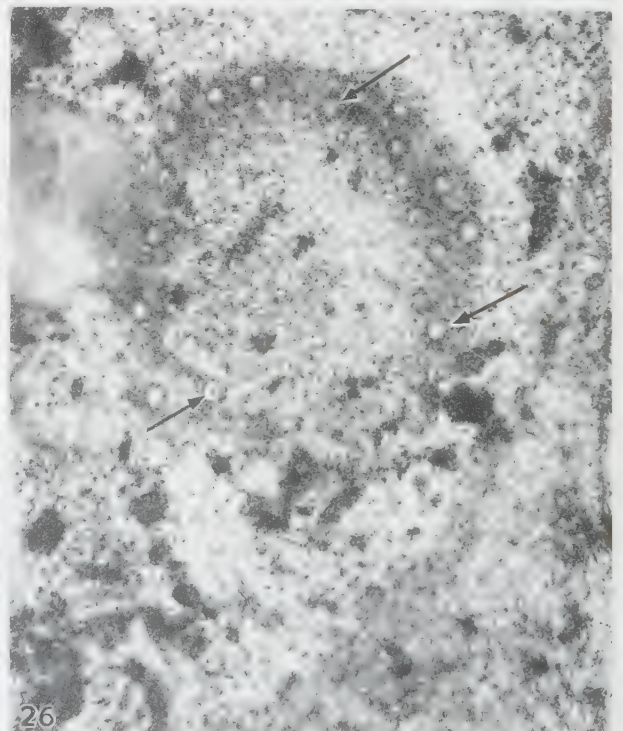
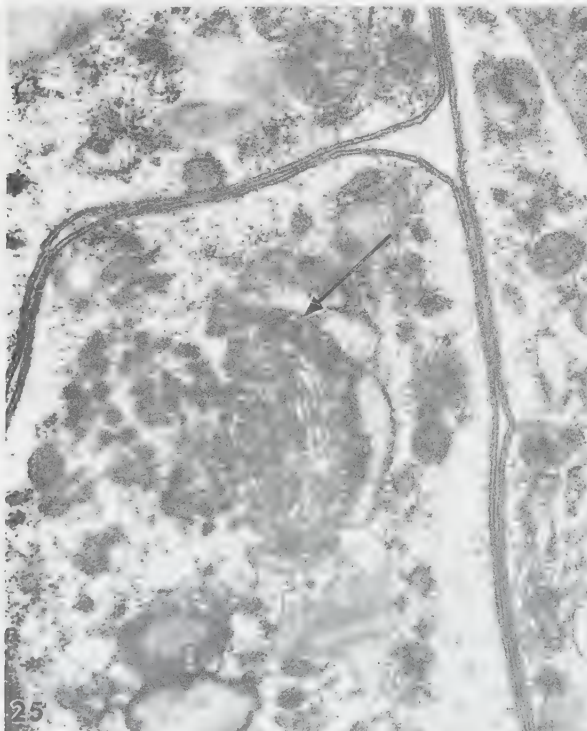
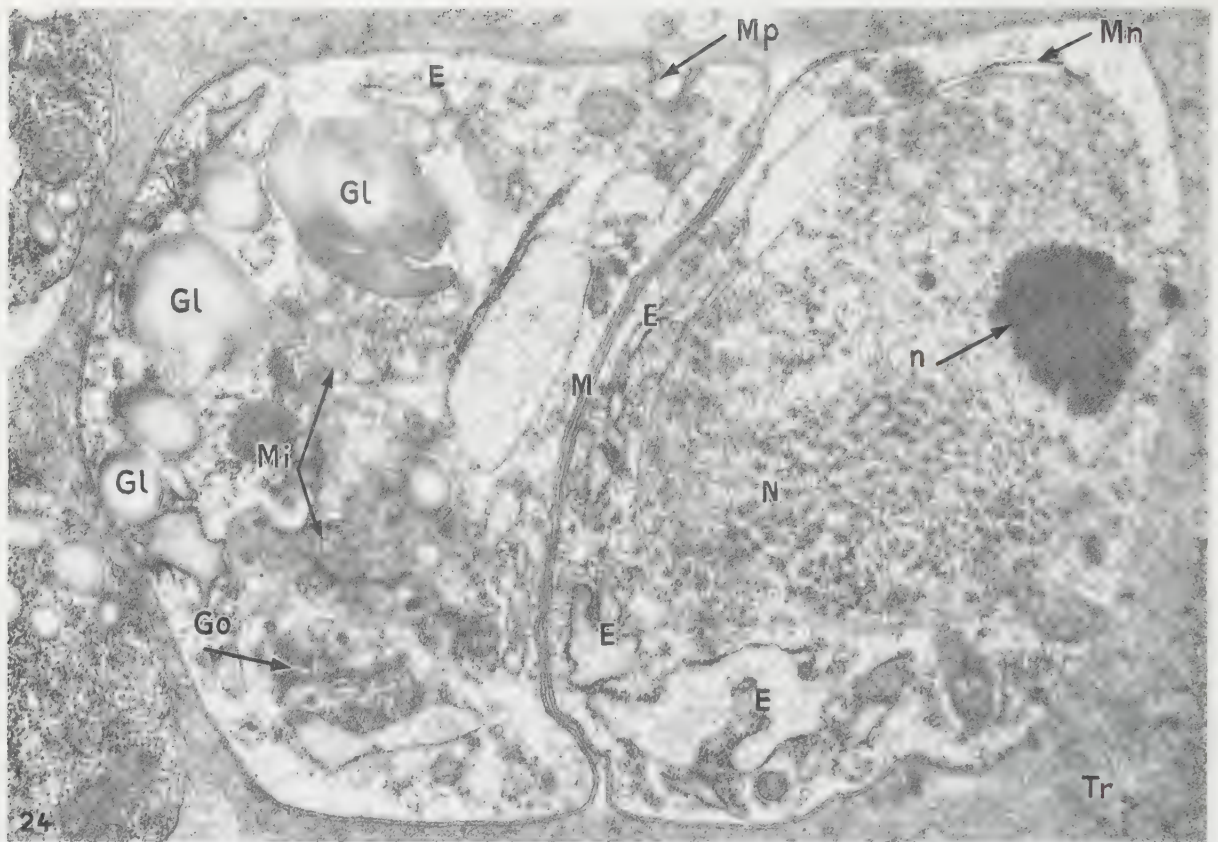


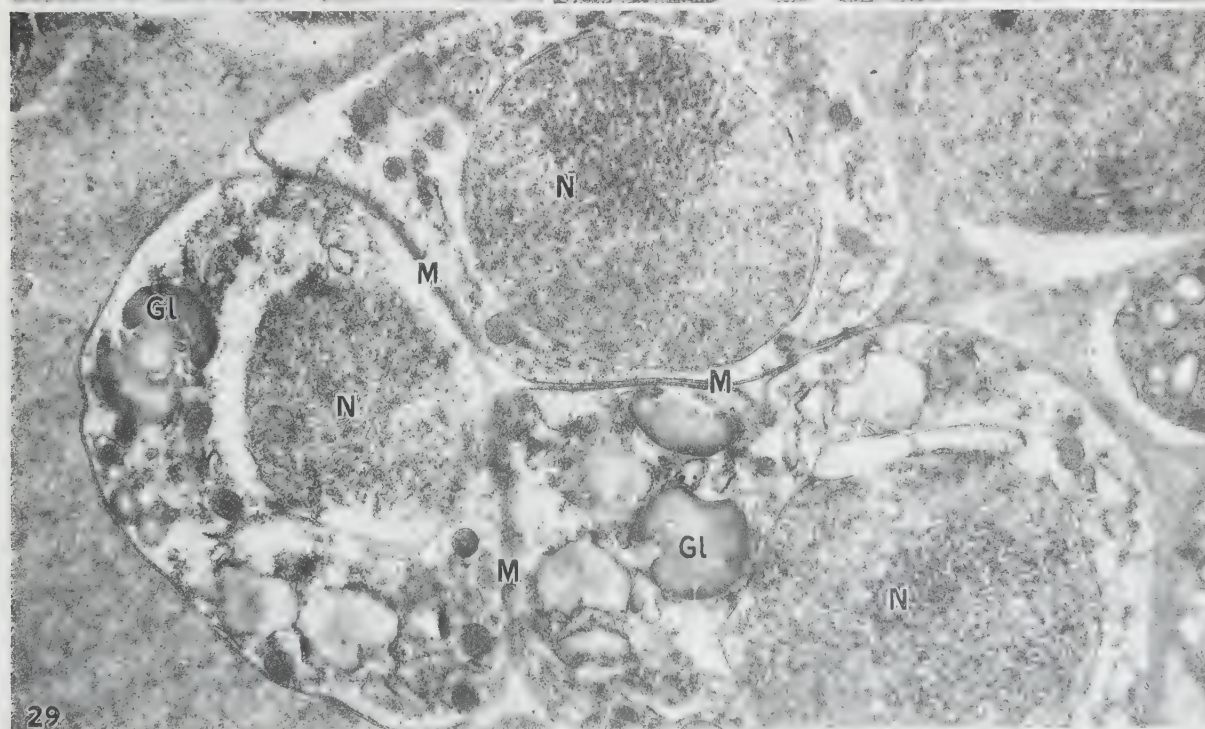
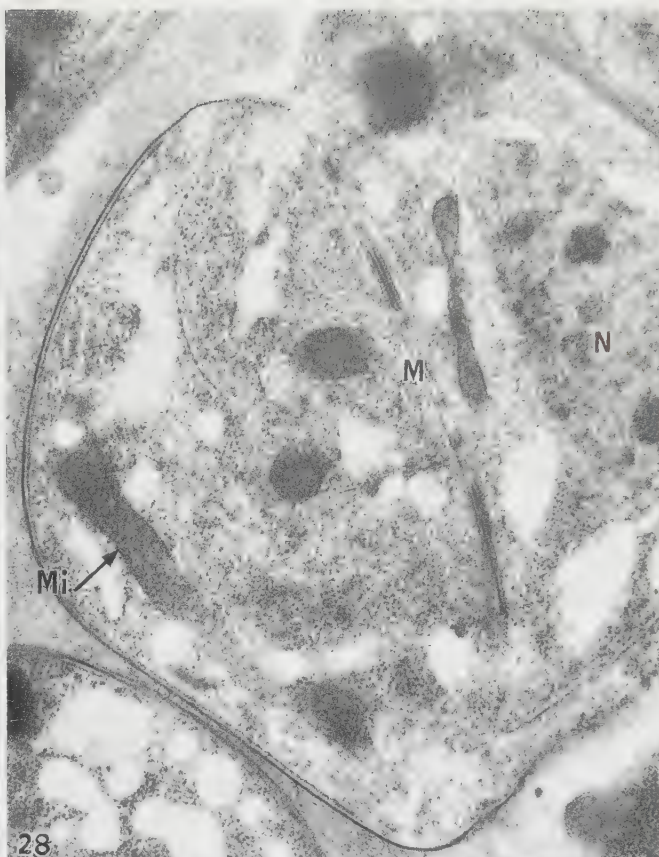


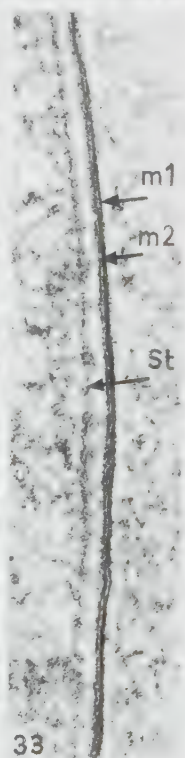
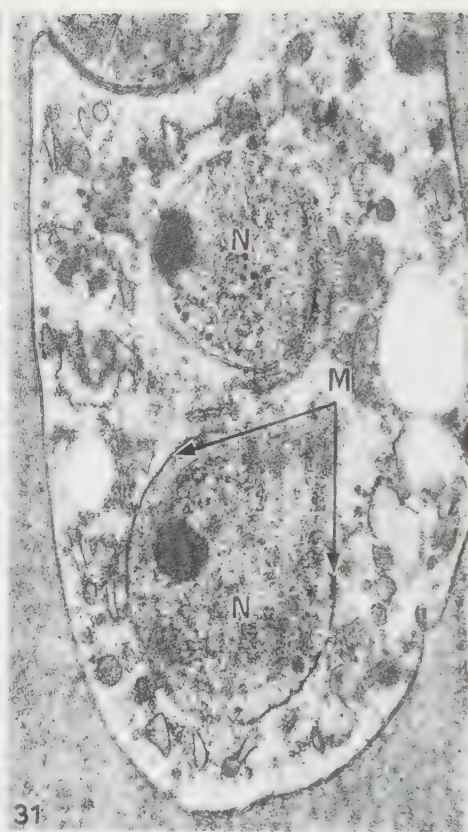
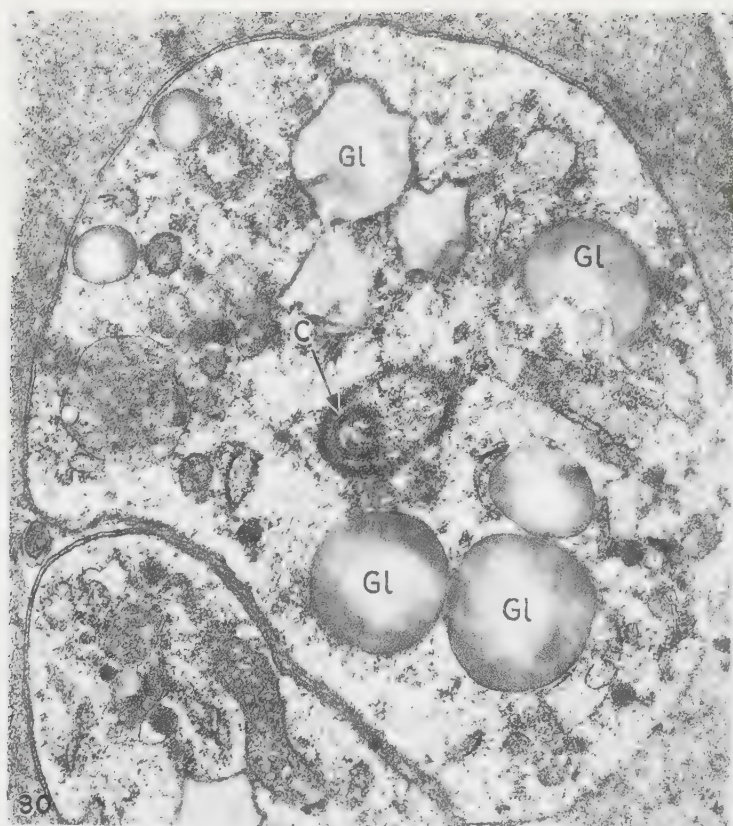






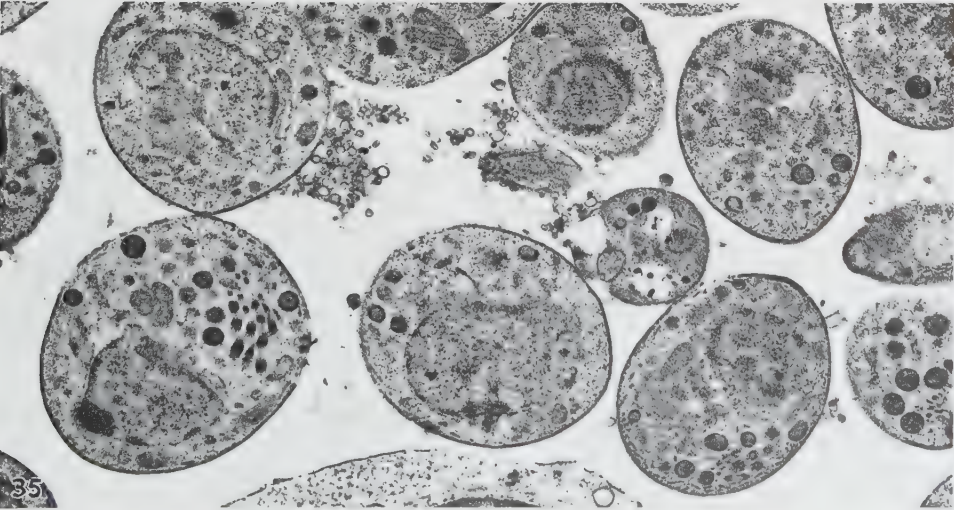




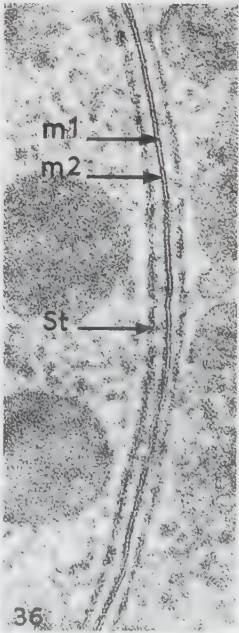




34



35



36

